

Ecologie nutritionnelle et traits d'histoire de vie chez les parasitoïdes: mécanismes et conséquences

David Giron

▶ **To cite this version:**

David Giron. Ecologie nutritionnelle et traits d'histoire de vie chez les parasitoïdes: mécanismes et conséquences. Ecologie, Environnement. Université François Rabelais - Tours, 2002. Français. NNT : . tel-00103316

HAL Id: tel-00103316
https://theses.hal.science/tel-00103316

Submitted on 4 Oct 2006

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

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

UNIVERSITÉ FRANÇOIS RABELAIS - TOURS

École Doctorale : Santé, Sciences et Technologies

Année Universitaire : 2002/2003

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

Discipline : Sciences de la Vie

Présentée et soutenue publiquement par:

David GIRON

Le 16 décembre 2002

Ecologie nutritionnelle et traits d'histoire de vie chez les parasitoïdes : Mécanismes physiologiques et conséquences

Directeur de thèse :
Pr. Jérôme CASAS

Membres du Jury

MAYZAUD Patrick	Directeur de Recherche, CNRS Villefranche sur Mer
MURDOCH William	Professeur, Université de Californie, Santa-Barbara
CASAS Jérôme	Professeur, Université de Tours
HOCHBERG Michael	Directeur de Recherche, Université de Montpellier II
RIVERO Ana	Chercheur Associé, Université d'Edinburgh
SAINT-PIERRE Benoît	Professeur, Université de Tours

UNIVERSITÉ FRANÇOIS RABELAIS - TOURS

École Doctorale : Santé, Sciences et Technologies

Année Universitaire : 2002/2003

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

Discipline : Sciences de la Vie

Présentée et soutenue publiquement par:

David GIRON

Le 16 décembre 2002

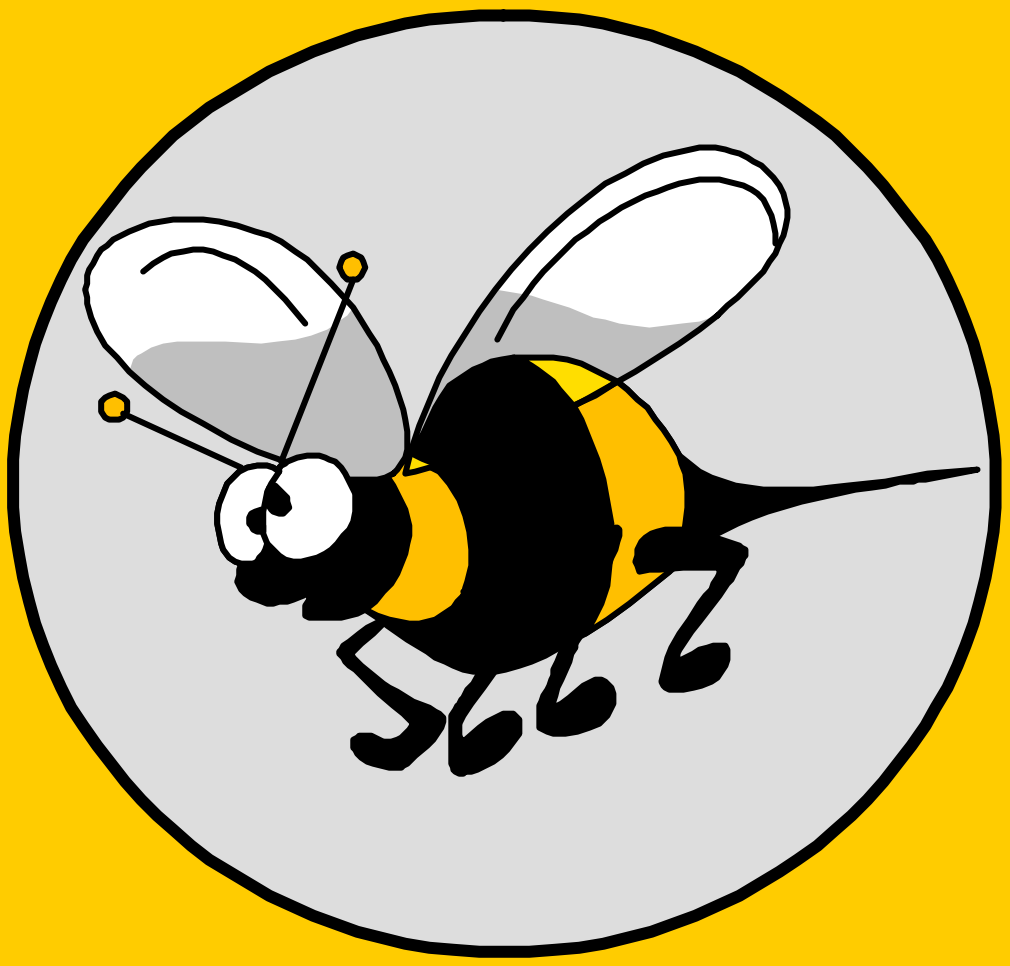
Ecologie nutritionnelle et traits d'histoire de vie chez les parasitoïdes : Mécanismes physiologiques et conséquences

Directeur de thèse :
Pr. Jérôme CASAS

Membres du Jury

MAYZAUD Patrick	Directeur de Recherche, CNRS Villefranche sur Mer	Rapporteur
MURDOCH William	Professeur, Université de Californie, Santa-Barbara	Rapporteur
CASAS Jérôme	Professeur, Université de Tours	Examinateur
HOCHBERG Michael	Directeur de Recherche, Université de Montpellier II	Examinateur
RIVERO Ana	Chercheur Associé, Université d'Edinburgh	Examinateur
SAINT-PIERRE Benoît	Professeur, Université de Tours	Président

A papi…



"Faut pas rêver sa vie. Ou alors, faut la rêver avec des choses faisables."

Les bidochons, "ragots intimes", BINET.

Trois ans...

Trois ans… C'est ce qu'il m'aura fallut pour en arriver là. Trois ans… Certains diront que ce ne fût que trois ans ! Qu'est-ce que trois ans dans toute une vie ? Mais la thèse s'est presque une vie en soit, c'est en tout cas une tranche de vie. S'il y a des moments dans une vie où le temps semble s'écouler au ralenti, il en est d'autres où tout bouge, tout change, tout se chamboule ou même s'écroule. Ces trois dernières années furent de celles-ci. Trois ans où l'on se trouve, on se découvre. Trois ans au cours desquelles on mûrit, on grandit, on s'assagit! Trois ans durant lesquelles on quitte peu à peu l'insouciance pour plus de consistance…Trois ans pour apprendre, chercher et parfois trouver.

C'est trois dernières années furent marquées d'évènements majeurs dans ma vie. Qu'ils furent heureux ou malheureux chacun d'entre vous y a participé ou assisté. Au cours de ces trois ans j'ai expérimenté toute la gamme des sentiments possible. De l'espoir il y en a eut souvent, du désespoir aussi parfois. Même si l'enthousiasme fut de mise, il y eut malgré tout du découragement quelquefois et des doutes des fois. Il y eut aussi de l'exaltation, de la passion… de la tristesse et de la joie. Si l'est un sentiment qui dominera tout de même tout au long de ces trois ans, c'est le bonheur. Le bonheur d'avoir partagé ces trois années avec vous. Trois années dans une vie… trois années de ma vie !

Lorsque vient le temps des remerciements une multitude de noms se bouscule dans ma tête. Il faut dire que, vous l'aurez compris, ma thèse fût bien plus qu'une étape de plus dans ma vie d'étudiant, une étape destinée à compléter les connaissances acquises tout au long de mon cursus. Ma thèse fût plus que ça, bien plus que ça. C'est pour cela que je souhaite vous remercier toutes et tous…

Dans le désordre…

Je souhaiterai remercier tous les membres de l'Institut pour ces trois années passées en votre compagnie. Je me suis senti avec vous comme au sein de ma propre famille. Il faut dire que j'ai certainement passé plus de temps au sein du laboratoire qu'au sein de ma propre famille!!! Merci donc à tous pour votre bonne humeur, votre écoute, votre aide et votre soutien. Merci à toi Aurélie pour les longues discussions dans les couloirs et les nombreuses psychanalyses mutuelles, ainsi que pour les folles escapades dans les tilleuls des jardins de Villandry (pour rajouter des branches aux arbres!!! Qui a dit qu'on faisait des choses étranges en recherche???). Merci à toi Benoît, mon maître, mon gourou,

mon idole… Merci à toi pour toutes ces années passées à l'IRBI et toutes celles passées en dehors. La vie au labo aurait été très certainement bien moins drôle sans toi. Nos discussions et nos sorties me manqueront. Merci à toutes celles et ceux qui m'ont largement aidées dans mes différentes expériences. Merci donc à Sylvain, Eric, Fabrice, Ana, Nicole, Christophe, Ruben et Grégory. Merci à Christine pour sa bonne humeur, son aide précieuse et son dévouement à toute épreuve. Merci à Sonia sans qui mes nombreuses "vacances" en France et à l'étranger n'auraient pu se faire. Merci à Nathalie et à Christelle de m'avoir offert l'opportunité de donner des cours (même si ce fût en statistique!!!). Cette expérience fût, et de loin, fort agréable et très enrichissante.

Merci à tous les étudiants qui ont eu à me subir et particulièrement au groupe du mardi matin (c'est vrai on n'a pas idée de faire des stats à 8h du matin!).

Merci à Jérôme pour son soutien et sa confiance quotidienne. Merci pour tout ce que tu m'as apporté tant d'un point de vue professionnel que personnel! Merci pour les nombreuses discussions scientifiques et autres qui furent stimulantes et enrichissantes. Merci pour son encadrement sans faille et pour les conditions de travail idéales. Merci aussi pour les nombreux déplacements de par le monde (les voyages forment la jeunesse dit-on!!!) et en particulier pour le séjour au pays de Galles. Tu fus bien plus qu'un directeur de thèse…

Merci à toute "l'équipe Casas". Chacun d'entre vous, membres passés, membre "permanent" ou nouveau membre pour votre soutien sans faille dans tout les instants, même les plus durs. Merci donc à Imen pour son tempérament de feu, ses coups de gueules, ses formules magiques pour se sentir mieux dans les moments difficiles ("pète un bon coup ça ira mieux…"), les multiples escapades aux quatre coins du monde et pour son amitié sincère. Merci à Ana pour son aide précieuse (en particulier au niveau de la rédaction en Anglais des articles), pour les folles soirées "au temps des Rois", les escapades Californiennes (rember la "Folston Street Fair"!!!), le célèbre Haggis et les soirées Scottish (version hispanisée tout de même!). Merci à Christelle pour son sens inouïe de l'organisation (tu es notre mère à tous), ta formidable bonne humeur. Juste un conseil: libères la Basquaise qui est en toi, montes sur les tables et mets le feu!!! Merci à Olivier (aussi dit "le parasite") et Sylvain pour votre énergie, les folles soirées et le retour à la vie étudiante, la vraie… Merci à Nicole pour les nombreuses discussions diverses et variées, les nombreux conseils (promis je laverai ma paillasse deux fois la prochaine fois!) et désolé pour les trous d'acides dans tes vêtements. Merci à notre "savant fou". Merci donc à toi Jean-philippe pour ton aide précieuse et ton soutien. Merci à Philippe, Brillanda, Cyril, Martine

et Aurélie. Notre rencontre fût brève mais intense… Enfin merci à Catherine pour qui j'ai la plus grande admiration et le plus grand respect. Merci à toi et surtout ne change pas et bonne chance dans ta nouvelle vie qui commence…

Merci à tous les membres de "l'équipe génétique" (deuxième famille d'adoption après "l'équipe Casas"). Les moments partagés resteront parmi les meilleurs passés au labo. Merci à Pascal pour les folles parties de squash, les séances posage de papier peint et merci pour les rillons absolument exquis. Merci à Eric pour son fameux vin Bordelais (idéal pour aller avec les rillons), les folles parties de squash (et oui encore!) et les nombreuses discussions parfois jusqu'à très tard. Merci à Mayté pour les folles soirées hispaniques, le soutien quotidien, les longues soirées à refaire le monde et pour notre inoubliable voyage à Venise……Merci à Catherine pour son irrésistible loufoquerie et son sens inouï de la théâtralisation. Merci aussi pour ta voiture pour me rendre au labo le WE, les jours fériés et le matin de bonheur (c'est juste pour montrer à quel point j'ai beaucoup travailler au cours de ma thèse!). Merci à Marylène pour son amitié sincère, son inégalable charme et pour les séances séchage de larmes… Enfin merci à Elisabeth pour tout ce qu'elle m'a apportée sans même le savoir parfois. Tu restes pour moi un modèle en de nombreux points. Merci aussi à Jérôme, Jean-Michel et Georges.

Merci à Birbi et à tous ses amis. Le Kikikose fût une expérience des plus charmantes.

Merci aux collègues des labo d'à côté que se soit la BV ou l'équipe "Bigot" pour les nombreux échanges et les multiples sourires!

Merci à madame Henault du service de reproduction pour son aide précieuse jusqu'aux dernières minutes de ma thèse…

Merci à l'ensemble des professeurs que j'ai pu avoir que se soit au collège, au lycée ou à l'université. Merci à ceux qui m'ont encouragé, encadré, inspirés et marqués et tout particulièrement M. Monin, ML. Chambon, Mr Soudry, J. Huignard et G. Périquet.

Merci à toute l'équipe Tomos pour leur accueil formidable lors de mon séjour Gallois. Merci à Elaine et Karen pour leur aide précieuse et pour les folles soirées *made in Wales* (et oui encore des soirées!). Merci à Stefan. Merci à Deri pour son accueil. Merci aussi à Monica (et oui encore une espagnole!) pour les longues discussions et les ballades aux quatre coins du Royaume-Uni.

Merci au GDR Ecologie Comportementale pour son soutien scientifique et financier. Merci en particulier à Marc et Franck ainsi qu'à toute l'équipe Dijonnaise. Le voyage à Montréal restera un très bon moment.

Merci aux membres du jury pour avoir accepter de juger mon travail de thèse. Merci également à toutes celles et ceux qui m'ont aidés dans la rédaction de mes différents articles par leur commentaires et suggestions. Merci donc à W, Blanckenhorn, K. Crailsheim, M. Hochberg, M. Jervis, E. McCauley, N. Perrin, A. Rivero, J. Rosenheim et M. Wells.

Merci également au comité de la CIFE 2002 pour ses encouragements et son soutien financier. Merci tout particulièrement à G. Boivin et à J. Brodeur.

Merci aux CPE du lycée Ampère (Vendôme) et du lycée Bayet (Tours) pour avoir accepter de me laisser parfois quitter mon poste plus tôt ou arriver plus tard.

Merci à tous les copains du D.E.A. pour les folles, très folles soirées et pour nos escapades Chizéennes, Paimponaise ou Parisiennes.

Merci à tous les copains qui me suivent depuis le lycée pour certains d'entre eux. Merci donc à Anthony, Aurore, Caroline, Rodolphe, Magali, Jérôme et Céline. Les moments passés ensemble furent inoubliables et notre amitié durable m'est des plus précieuses. Merci à Gérald pour les folles soirées étudiantes, les expériences les plus inattendues (no comment!), les essais sportifs divers et variés (plus ou moins réussi les essais!!!), les séances de plongée ratées, les séances de rock avortées, les séances de muscu abandonnées, les mois de collocation forcés… Merci à Anne et Barbara pour m'avoir supporté en tant que directeur lors de nos escapades Grecques et pour les souvenirs inoubliables. Merci à Marc et Julien (et à la morue en chef) pour leur soutien très précieux et leurs conseils (même si je ne les suis pas tout le temps!) ainsi que pour les soirées très hautes en couleurs! Merci à Dany et Isa pour les séances chasse d'insectes et pour m'avoir fait découvrir Chartres et Dreux (vraiment si vous savez pas quoi faire, je vous le conseil). Merci à toute la bande Lochoise pour les soirées très animées. Merci donc à Carole, Christophe, Céline, Paulo, David, Toub, Catherine, Vess et Sophie.

Merci à tous mes amis de chaque instant. Merci pour votre amitié sincère et votre soutien sans faille. Merci à Laurent pour son amitié fraternelle et sa compréhension, mais également pour toutes les techno-soirées, les escapades Ibiziennes et les incroyables séances shoppings! Merci à Christelle pour ses

conseils, son écoute, sa gentillesse (si, si elle peut être gentille quand elle le veut!) et bien plus encore. Merci à Cathy et Sandrine, mes compagnes d'infortune, courage les filles un jour viendra... En attendant merci à vous pour votre soutien et votre compréhension. Merci à David pour son aide précieuse en particulier au niveau du pot ainsi que pour tous les bons moments passés ensemble! Merci enfin à Sandra et Cédric. S'il en est deux faits pour s'entendre ce sont bien eux! Enfin merci à Cédric pour les merveilleux moments passés et les instants magiques partagés. Continue à me faire rêver...

Merci à toute ma famille pour leur soutien sans faille. Merci à tous Oncles, Tantes, Cousins, Cousines et Grand Parents. Merci à mes frères et tout particulièrement à Thierry pour tout ce qu'il m'apporte. Merci à Caroline pour son amour sincère. Merci à Inès pour son sourire et pour avoir éclairé ma vie d'un doux rayon de bonheur. Merci à Papi pour son soutien et sa confiance en moi. Merci à Papi et Mamie pour leur soutien quotidien, leur foie en moi et pour tout ce qu'ils m'ont apportés tout au long de ces années. Enfin merci à toi Maman pour ton amour sans faille, ta confiance, tout soutien... Tout ceci est aussi le résultat de ton travail...

Et enfin pêle-mêle, merci à Coca-cola company sans qui tout ceci n'aurait été possible, merci à Jacky et Colette, Bouch, Corinne et Vladimir, Dominique et Elodie, Mr et Mme Jimenez, les copains de fac, les personnes connues et inconnues rencontrées au hasard de soirées, de voyages ou de rencontres sportives, celles et ceux que j'ai aimé, ne fût-ce qu'un instant parfois même sans rien en retour, et enfin tous les gens qui font ce que je suis aujourd'hui.

Je vous attends tous à Atlanta.....

A l'usage de tout doctorant: Je vous conseille la lecture du livre intitulé "Comment réussir sa thèse" ("How to get a PhD: a handbook for students and their supervisors", E.M. Phillips & D.S Pugh, Open University Press).
Vous apprendrez par exemple, que NON, vous n'êtes pas tout seul à déprimer au cours de votre thèse ("the PhD process: psychological aspects") et qu'enthousiasme et euphorie côtoient isolation et frustration! Vous pourrez aussi découvrir quelques "recettes pratiques" comme par exemple comment faire de la recherche de façon efficace et rentable ("how to do research"). Passage intéressant également celui décrivant comment survivre dans le monde de la recherche lorsque l'on est originaire d'une ethnie minoritaire, lorsque l'on est une femme ou lorsque l'on est gay. Tout un programme! ("how to survive in a predominantly British, white, male, full-time academic environment"). Enfin, je vous conseille tout particulièrement la lecture du passage vous indiquant comment diriger votre directeur de thèse ("how to manage your supervisor")!!!
Exples:

- Les étudiants attendent de leur directeur qu'il lise leur travail le plus rapidement possible.
- Les étudiants attendent de leur directeur qu'il soit disponible quand ils en ont besoin.
- Les étudiants attendent de leur directeur qu'il soit amical, ouvert d'esprit et qu'il les soutiennent.
- Les étudiants attendent de leur directeur qu'il fasse uniquement des remarques constructives.
- Les étudiants attendent de leur directeur qu'il soit extrêmement impliqué dans leur thèse de façon à ce qu'il les aide à trouver un super job à la fin!!!

Sommaire

Ecologie évolutive ---- **2**
Théorie des traits d'histoire de vie ---- 2
Ecologie comportementale ---- 3
Modélisation mathématique ---- **4**
Les modèles statiques de maximisation de taux ---- 5
Modèles d'optimisation dynamiques état-indépendants ---- 5
Modèles d'optimisation dynamiques état-dépendants ---- 6
Physiologie intégrative ---- **6**
Objectifs de la thèse et modèles d'étude ---- **7**
Structure de la thèse ---- **9**

Chapitre 1
The physiology of host-feeding in parasitic wasps: implications for survival

Introduction ---- **13**
Materials and methods ---- **15**
Extraction of host-feeding fluids ---- 15
Extraction of haemolymph ---- 16
Whole host body extracts ---- 16
Lipid, sugar and glycogen analyses ---- 16
Protein analyses ---- 17
Identification and quantification of host haemolymph sugars ---- 18
Quantification of haemolymph consumption ---- 18
The effect of sugars on female longevity ---- 19
Statistical analysis ---- 19
Results ---- **20**
Discussion ---- **22**

Chapitre 2
Lifetime allocation of juvenile and adult nutritional resources to egg production in a holometabolous insect

Introduction ---- **26**
Materials and methods ---- **28**
Marking the larval reserves ---- 29
Marking the adult reserves ---- 30
Sample preparation and radioactivity quantification ---- 30

Results ---------- **32**
Discussion ---------- **36**

Chapitre 3
Mothers reduce egg provisioning with age

Introduction ---------- **41**
Materials and methods ---------- **41**
Egg size and composition ---------- 42
Correlation among egg size, egg composition and offspring fitness ---------- 43
Results ---------- **44**
Discussion ---------- **46**

Chapitre 4

Lipogenesis in an adult parasitic wasp

Introduction ---------- **49**
Materials and methods ---------- **50**
Parasitoid biology ---------- 50
Experimental set-up ---------- 51
Biochemical analyses ---------- 52
Radioactivity quantification ---------- 52
Statistical analyses ---------- 52
Results ---------- **53**
Nutrient analyses ---------- 53
Radioactivity analyses ---------- 55
Discussion ---------- **56**

Discussion générale

Les modèles dynamiques à variables d'état: une perspective plus réaliste ---------- **61**
Principes de base ---------- 61
Le comportement de nourrissage sur l'hôte chez les parasitoïdes ---------- 62
Réalisme physiologique et complexité ---------- 64
Implications des modèles et apports des résultats obtenus ---------- **68**

Identification des flux nutritionnels ---------- 68
Quantification des flux nutritionnels ---------- 71
Perspectives, les nouveaux enjeux ---------- 74
Des modèles vers les études empiriques ---------- 74
Des études empiriques vers les modèles ---------- 76
Conclusions ---------- 78

Références bibliographiques

Introduction générale

La sélection naturelle est un processus d'optimisation tendant à maximiser la '*fitness*', ou valeur sélective, d'un individu. Différentes définitions de la '*fitness*' sont utilisées en biologie mais la plupart du temps, la '*fitness*' fait référence au succès reproducteur d'un individu, autrement dit à l'efficacité avec laquelle il transmet ses gènes à la génération future (Hamilton 1964; Daan & Tinbergen 1997). De façon simplifiée, il existe deux mesures principales de la '*fitness*': les mesures dites globales et celles dites locales. Les mesures de '*fitness*' globales tiennent compte de l'ensemble des composantes de la '*fitness*' et utilisent généralement le succès reproducteur sur toute la vie d'un organisme (Ro) dans les populations stables, ou le taux de croissance intrinsèque (r) dans les populations en croissance (Lewontin 1965; Roff 1981; Charnov & Berrigan 1991). Les mesures de '*fitness*' locales ne prennent en compte qu'une des composantes de la '*fitness*', telle que la fécondité, la longévité, la taille, ou le taux d'acquisition d'énergie. Ce type de mesure est généralement utilisé quand il n'est pas possible de mesurer tous les paramètres intervenant dans le succès reproducteur d'un individu.

L'écologie évolutive est directement centrée sur la question "pourquoi et comment les organismes évoluent de façon à maximiser leur succès reproducteur?". Cette question peut-être abordée à plusieurs niveaux, tels que la génétique, la physiologie, les comportements ou l'analyse des traits d'histoire de vie (Fox *et al.* 2001; Roff 2002).

Théorie des traits d'histoire de vie

La théorie des traits d'histoire de vie cherche à expliquer les variations observées au niveau des caractéristiques de vie majeures des organismes. Elle analyse, dans une perspective d'écologie évolutive, comment ces variations de traits conduisent à des différences de '*fitness*' au niveau intra- et inter-spécifique. Cette théorie se base plus spécifiquement sur les caractères ayant un lien direct avec la reproduction ou la survie, tels que la taille à la naissance, la taille et l'âge à la maturité sexuelle, le nombre de descendants produits, leur capacité à survivre, etc. (Stearns 1992; Roff 2002).

Un des principes fondamentaux de la théorie des traits d'histoire de vie consiste en l'existence de compromis (Cole 1954; Stearns 1992; Roff 1992). Des contraintes génétiques, physiologiques ou biomécaniques empêchent en effet les individus de maximiser tous leurs traits d'histoire de vie. Si un organisme ne peut favoriser un de ses traits uniquement qu'aux dépens d'un autre de ses traits on parle alors de compromis évolutif. Plus exactement, l'individu se trouve face à un dilemme, physiologique, écologique ou autre, et doit alors réaliser un compromis entre les différents traits d'histoire de vie impliqués dans ce dilemme.

Généralement, un compromis est réalisé lorsque que deux traits sont liés et limités par la même ressource: temps, énergie, ou toute autre ressource présente en quantité limitée (principe de l'allocation, Levins 1968). Par exemple, dans la plupart des cas, l'énergie constitue une ressource limitée devant être partagée entre les différentes fonctions de l'organisme. Son allocation à un des traits de l'organisme se fera donc aux détriments des autres caractères. La sélection naturelle, visant à maximiser la '*fitness*' des organismes, favorisera la combinaison de traits qui est la mieux adaptée aux conditions écologiques ambiantes.

La théorie des traits d'histoire de vie, et plus particulièrement le concept de compromis évolutif, est un outil très important pour la compréhension des processus évolutifs (Cole 1954; Stearns 1992; Roff 1992). Williams (1966) fût le premier à mettre en évidence que la reproduction pouvait avoir un effet négatif sur les autres traits d'histoire de vie. Deux compromis majeurs dérivent directement des observations de Williams. Le premier, connu sous le nom de "coût de la reproduction" (Williams 1966; Reznick 1985; Gustafsson & Sutherland 1988), repose sur un compromis entre reproduction immédiate et reproduction future. La reproduction est en effet un processus coûteux d'un point de vue énergétique. Tout événement de reproduction entraîne donc, entre autre, une utilisation d'une partie des réserves énergétiques réduisant ainsi non seulement la fécondité future, mais mettant également en danger la survie des parents et donc leurs chances de se reproduire dans le futur (Bell & Koufopanou 1986). Le second compromis évolutif majeur intervient au niveau de la division de l'effort reproductif immédiat entre les différents descendants produits. Il est généralement connu sous le nom du compromis "nombre-*fitness* des descendants". En effet, lorsque le nombre de descendants produits augmente, la quantité de ressources énergétiques pouvant être alloué à chacun d'eux diminue. Il en résulte alors un compromis entre le nombre de descendants produits et leur survie (Lack 1947; Godfray 1987).

Ecologie comportementale

Le succès d'un individu à survivre et à se reproduire est fortement dépendant de son comportement. L'écologie comportementale se base sur l'étude de ces comportements et vise, plus précisément, à comprendre comment les organismes interagissent avec leur environnement par le biais de leurs comportements et quelles sont les incidences de ces derniers sur leur '*fitness*' (Krebs & Davies 1993; Fox *et al.* 2001). L'écologiste comportemental essaiera de mettre en évidence les différentes options comportementales dont dispose l'organisme ('*the strategy set*') -options qui dépendront des contraintes imposées par la

phylogénie, la physiologie et l'écologie- les conséquences pour l'organisme d'adopter telle ou telle stratégie et les conséquences de ces comportements sur sa '*fitness*'.

La plupart des comportements observés ont une explication aussi bien causale ("*pourquoi?*") que fonctionnelle ("*comment?*"). L'écologie comportementale s'intéresse à l'explication évolutive des comportements et cherche donc à mettre en évidence à la fois comment un comportement particulier contribue aux chances de survie d'un organisme et à son succès reproducteur, et quels mécanismes ont permis la mise en place de ce comportement (Krebs & Davies 1993). Les deux types de questions sont complémentaires, se poser la question du "*pourquoi?"* aidant souvent à répondre à la question mécanique du "*comment?*", et vice versa. L'écologie comportementale se trouve donc être un point de rencontre entre la génétique, la physiologie, l'éthologie, l'écologie et l'évolution.

Modélisation mathématique

La modélisation mathématique est un outil largement utilisé en écologie évolutive pour étudier les traits d'histoire de vie, les comportements ainsi que leur évolution (Krebs & Kacelnik 1993; Roff 2002). Cet outil permet, par exemple, d'étudier les mécanismes génétiques, ou physiologiques qui conditionnent la mise en place des comportements. Une des méthodes fréquemment utilisée est l'approche optimale. A partir d'un problème biologique déterminé, un modèle mathématique est élaboré sur la base d'hypothèses. Ce modèle vise à déterminer dans un premier temps les différentes stratégies comportementales (ou autres) que l'animal peut adopter. Dans un deuxième temps, le modèle est analysé afin de déterminer la solution optimale. Cette notion d'optimisation signifie que la stratégie adoptée permet l'obtention d'un succès reproducteur maximal, en accord avec les contraintes phylogénétiques, ontogénétiques ou environnementales auxquelles est soumis l'organisme considéré. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, un individu ne peut maximiser tous ses traits en raison des différentes contraintes auxquelles il doit faire face. Dans un troisième temps, les prédictions du modèle sont confrontées aux données expérimentales permettant la validation des hypothèses (et donc du modèle) ou le rejet de celles-ci. Notons que, bien qu'indispensable, cette troisième étape est bien souvent absente faute de données expérimentales.

Les modèles statiques de maximisation de taux

Sous leur forme la plus simple, les modèles d'optimisation posent comme hypothèse que la sélection naturelle maximise certains paramètres utilisés comme estimateur de la '*fitness*' d'un organisme: le taux d'acquisition d'énergie, le nombre de descendants, etc. Ces modèles d'optimisation "classiques" ('*static rate maximizing models*') analysent, par exemple, l'influence d'un ou plusieurs facteurs sur une décision comportementale donnée: la taille de l'hôte sur la décision de ponte chez un parasitoïde, la décision de quitter une parcelle ('*patch*') par un étourneau en fonction du temps nécessaire pour atteindre cette parcelle, le choix optimal de proies par un prédateur en fonction du niveau de profitabilité des proies (McArthur & Pianka 1966; Tinbergen 1981; Iwasa *et al.* 1984; Kacelnik 1984; Cuthill 1985; Stephens & Krebs 1986; Kacelnik & Cuthill 1987, 1990; Cuthill & Kacelnik 1990; Cuthill *et al.* 1990; Kacelnik *et al.* 1990). Ils conduisent à une prédiction fixe, c'est à dire indépendante de variables physiologiques (âge du parasitoïde/prédateur, nombre d'œufs disponibles, niveau des réserves énergétiques, etc.) et de variables écologiques (saison, probabilité de rencontre d'un hôte/proie, taux de mortalité, etc.) (Godfray 1994; Wilson 1994; Wilson & Lessells 1994). L'introduction de paramètres stochastiques tels que la probabilité de rencontre d'un hôte permet d'influencer le seuil critique de décision -e.g. taille de l'hôte où le comportement change- mais n'influence en rien le caractère figé des prédictions du modèle (Hugues 1979; Houston *et al.* 1980; Iwasa *et al.* 1984; Godfray 1994).

Modèles d'optimisation dynamiques état-indépendants

Certains comportements conditionnent fortement la probabilité de survie des organismes. De plus, cette probabilité de survie peut être fortement influencée par la saison ou bien encore l'âge de l'individu considéré. Les modèles dynamiques permettent d'intégrer au processus d'optimisation de la '*fitness*' les effets du temps et du taux de mortalité. Ils utilisent alors le temps sous une forme discrète (temps décomposé en courtes périodes de taille déterminée) plutôt que sous une forme continue, tel que cela est supposé implicitement dans les modèles d'optimisation statiques (Clark & Mangel 2000).

Modèles d'optimisation dynamiques état-dépendants

Amorcée dès les années 1930 (Fisher 1930), la prise de conscience progressive de l'importance de la physiologie des organismes dans leurs décisions gagna peu à peu du terrain au sein de la communauté scientifique. Il faut cependant attendre la fin des années 1980 pour

voir apparaître une démarche modélisatrice incorporant très clairement l'état physiologique des organismes avec le développement des modèles dynamiques à variables d'état (Houston *et al.* 1988; Mangel & Clark 1988). Depuis quelques années, le développement de ces modèles d'optimisation dynamiques état-dépendants est apparu comme un outil majeur en écologie évolutive. Un des principaux avantages de ce type de modèles est lié à l'utilisation de différentes variables, les variables d'état, reflétant certaines caractéristiques physiologiques majeures susceptible d'influencer les décisions comportementales de l'organisme (Mangel 1989; Chan 1991; Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994; Heimpel *et al.* 1994; Collier 1995a, 1995b). En effet, dans la plupart des cas, la décision optimale choisie par un organisme dépend des valeurs prises par certaines de ses variables d'état: réserves énergétiques, âge, etc. (e.g. Chan & Godfray 1993). L'aspect dynamique des modèles dynamiques à variables d'état permet en outre de considérer l'existence de stratégies fluctuantes au cours du temps en fonction de l'état physiologique des organismes et de l'âge des individus considérés (Collier 1995a). La prise en compte des changements d'états physiologiques subis par les organismes et d'une perspective temporelle a permis ainsi la création de modèles théoriques plus réalistes, et intégrant mieux les conditions réelles auxquelles sont confrontés les organismes. Nous reviendrons sur ces modèles dans la discussion générale.

Physiologie intégrative

Il y a environ 70 ans, Fisher (1930) soulignait déjà l'importance de comprendre les mécanismes physiologiques pour l'analyse des traits d'histoire de vie, une remarque très largement relayée par un grand nombre d'auteurs en écologie comportementale. Par exemple, Stearns (1992) souligne que "la physiologie permet de comprendre les mécanismes qui sont à la base des compromis évolutifs" et que "les compromis physiologiques sont impliqués dans quasiment tous les compromis micro-évolutifs. Plus récemment, Rivero & Casas (1999a) soulignent "la nécessité d'incorporer plus de réalisme physiologique dans les études d'écologie comportementale" chez les hyménoptères parasitoïdes, et Warburg & Yuval (1996) soulignent que "le comportement n'est généralement qu'une forme d'expression de la physiologie" d'un organisme. Malgré une prise de conscience réelle de l'importance de la physiologie en écologie évolutive, les mécanismes sous-jacents aux décisions comportementales et les bases

physiologiques de la plupart des compromis évolutifs restent à l'heure actuelle encore méconnus. Bien qu'indispensables, les études de physiologie intégrative, mêlant à la fois physiologie et écologie évolutive -par le biais des comportements ou des traits d'histoire de vie-, restent encore très peu nombreuses. Par conséquent, bon nombre de modèles théoriques, dont les modèles dynamiques à variables d'état, apparaissent aujourd'hui limités par leur manque de réalisme physiologique.

Objectifs de la thèse et modèles d'étude

Cette thèse s'inscrit résolument dans une perspective de physiologie intégrative et cherche à préciser les règles d'acquisition et d'allocation des nutriments ainsi que leurs conséquences sur les traits d'histoire de vie des hyménoptères parasitoïdes. Dans ce cadre, je m'intéresse plus particulièrement aux deux compromis évolutifs majeurs, le "coût de la reproduction" et le "compromis nombre-*fitness* des descendants". J'explore ainsi les mécanismes physiologiques sous-jacents aux décisions comportementales et aux stratégies d'histoires de vies chez les parasitoïdes. Cette thèse se situe donc à l'interface entre l'écologie fonctionnelle et l'écologie évolutive.

Les parasitoïdes sont des insectes dont les larves se développent en consommant le corps d'autres arthropodes, généralement d'autres insectes. Ils constituent ainsi un groupe très important dans les écosystèmes naturels ainsi que dans les agrosystèmes en tant qu'auxiliaires de lutte contre les insectes ravageurs de cultures. Ils permettent en effet d'influencer, voire de réguler, les densités de populations de leurs hôtes. Ce succès, réel mais non systématique, dans les programmes de lutte biologique a généré de nombreuses recherches sur le comportement et l'écologie d'un grand nombre d'espèces de parasitoïdes. A l'origine essentiellement descriptives, ces différentes études se sont progressivement développées dans de multiples directions mettant ainsi en évidence l'importance des parasitoïdes en tant que modèle expérimental pour les études de dynamique des populations, d'écologie comportementale et d'écologie évolutive (Charnov & Skinner 1984; Charnov & Skinner 1985; Godfray 1994; Quicke 1997).

Un des principaux objectifs de l'écologie évolutive moderne est de comprendre les règles physiologiques, comportementales ou autres, permettant à un organisme de mettre en place une stratégie favorisée par la sélection naturelle. Les parasitoïdes constituent un modèle

idéal pour de telles questions en raison du lien direct qui existe entre leur comportement et leur '*fitness*', et de leur manipulation expérimentale relativement aisée (Godfray 1994). Il existe une abondante littérature concernant les traits d'histoire de vie des parasitoïdes, tels que la fécondité, la longévité, la durée de développement, etc. (Price 1973; Askew & Shaw 1986; Blackburn 1991a, 1991b; Godfray 1994; Jervis & Copland 1996; Quicke 1997). Deux compromis évolutifs majeurs ont fait l'objet d'une attention particulière: le compromis évolutif entre reproduction immédiate et reproduction future chez les parasitoïdes pratiquant le nourrissage sur l'hôte, et le compromis taille et nombre des descendants chez les parasitoïdes grégaires. Les parasitoïdes offrent en effet une opportunité idéale de tester la plupart des théories concernant l'évolution des traits d'histoire de vie et les compromis évolutifs.

L'alimentation de la larve de parasitoïde conduit généralement à la mort de son hôte ce qui rapproche le comportement des parasitoïdes de celui des prédateurs. Sur la base de leur comportement alimentaire larvaire, les parasitoïdes peuvent être divisés en deux classes. Certains parasitoïdes se développent au stade larvaire au sein de l'organisme hôte et sont ainsi qualifiés d'*endoparasitoï des*. Les *ectoparasitoï des* se développent quant à eux à la surface de leur hôte. La plupart des parasitoïdes peuvent être regroupés selon ces deux catégories mais il existe également des cas intermédiaires où le parasitoïde accomplit une partie de son cycle larvaire au sein de l'hôte avant de sortir pour accomplir la suite de son développement, ou vice versa (Godfray 1994; Quicke 1997). Les parasitoïdes pondant un seul œuf par hôte sont connus sous le terme de parasitoïdes *solitaires*, par opposition aux parasitoïdes *grégaires* pondant de deux à plusieurs centaines d'œufs par hôte. Certains parasitoïdes permettent à leur hôte de continuer à se développer après leur parasitisme. Ils sont alors dit *koï nobiontes*. Les *idiobiontes*, au contraire, bloquent le développement de leur hôte obligeant ainsi la larve de parasitoïde à n'utiliser que les ressources présentes dans l'hôte lors de la ponte. Les parasitoïdes peuvent également être classés en fonction de leur dynamique d'allocation des ressources dans la production d'œufs (Flanders 1950). Les parasitoïdes *pro-ovigéniques* émergent avec tout, ou une grande partie de leur stock d'œufs déjà matures et prêts à être pondus. Les parasitoïdes *synovigéniques* n'émergent quant à eux, qu'avec un très faible nombre d'ovocytes matures, l'essentiel de la maturation étant réalisé au cours du stade adulte. Ici encore, il existe un continuum entre ces deux situations "extrêmes" et toutes les situations intermédiaires ont pu être observées (Jervis *et al.* 2001). Pour les parasitoïdes pro-ovigéniques, l'intégralité des ressources énergétiques adultes est donc allouée à la maintenance de l'organisme. Pour les parasitoïdes synovigéniques, l'allocation des ressources est plus complexe et chaque individu doit pouvoir à la fois assurer les dépenses métaboliques

indispensables à la maintenance et à la reproduction. Pour faire face à ces différentes dépenses, les parasitoïdes synovigéniques peuvent utiliser leur hôte à des fins de nutrition et non plus pour y déposer un œuf. Ce comportement est qualifié de nourrissage sur l'hôte. Parallèlement, de nombreuses espèces de parasitoïdes, pro- et synovigéniques, sont connues pour consommer de la nourriture autre que l'hôte, telle que du nectar, du pollen ou du miellat (Rogers 1985; Hagen 1986; Jervis & Kidd 1986; Jervis et al. 1992, 1993; May 1992; Evans 1993; Jervis & Kidd 1996).

Les espèces utilisées dans cette thèse sont les parasitoïdes *Eupelmus vuilletti* (Crawford) (Hymenoptera: Eupelmidae), et *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). Ces deux parasitoïdes présentent des caractéristiques biologiques très proches. Ce sont des ecto-parasitoïdes tropicaux solitaires qui se développent au dépens de coléoptères Bruchidae et notamment aux dépens des larves de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae) infectant les gousses et les graines de *Vigna unguiculata* (Walper) (Fabaceae). Les femelles de ces deux espèces sont synovigéniques et pratiquent le nourrissage sur l'hôte.

Structure de la thèse

Les modèles développés pour prédire les décisions comportementales des parasitoïdes reposent fortement sur diverses suppositions quant à la nature et la fonction des nutriments acquis au cours du nourrissage sur l'hôte. Plus précisément, lorsqu'une femelle parasitoïde synovigénique rencontre un hôte, elle se trouve face à toute une série de décisions comportementales telles que l'utilisation de cet hôte à des fins reproductrices ou nutritives, le nombre d'œufs à pondre et le sexe des descendants produits, etc. Les prédictions des modèles s'intéressant à de telles questions dépendent très étroitement de la nature biochimique des nutriments consommés et si le nourrissage sur l'hôte fournit des nutriments utilisés uniquement dans la maintenance de l'organisme, uniquement dans la reproduction ou dans les deux fonctions (Jervis & Kidd 1986; Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994, Heimpel *et al.* 1994; Collier 1995a; Heimpel *et al.* 1998).

Les chapitres 1 et 2 sont centrés sur l'identification et la quantification des nutriments consommés lors du comportement de nourrissage sur l'hôte et sur leur impact sur la survie et la fécondité de femelles parasitoïdes synovigéniques.

Au cours du chapitre 1, nous analysons la composition biochimique des fluides consommés par le parasitoïde *Eupelmus vuilletti* au cours du nourrissage sur l'hôte à l'aide de techniques de colorimétrie et de chromatographie en couche mince. Cette analyse vise principalement à tester l'hypothèse communément admise depuis 1933, mais jamais rigoureusement testée, selon laquelle les parasitoïdes consomment l'hémolymphe de leur hôte lors du nourrissage sur l'hôte (Fulton 1933). L'identification de la nature réelle des principaux nutriments consommés lors du nourrissage sur l'hôte nous permet, dans un second temps, de tester l'influence de ce comportement sur la survie des femelles parasitoïdes synovigéniques pratiquant le nourrissage sur l'hôte. Grâce à une série de microinjections nous testons en effet l'impact des principaux sucres consommés sur la survie des femelles parasitoïdes. Les résultats obtenus nous permettent d'apporter quelques réflexions quant aux stratégies comportementales d'acquisition des nutriments chez les hyménoptères parasitoïdes pratiquant le nourrissage sur l'hôte. Plus précisément, la nécessité de rechercher de la nourriture autre que l'hôte pourrait être fonction des nutriments potentiellement consommés lors d'un nourrissage sur l'hôte. De telles considérations permettraient d'expliquer certaines différences comportementales observées au niveau interspécifique.

Le chapitre 2 consiste en une mise en évidence puis une quantification du lien unissant le nourrissage sur l'hôte et la reproduction. Il étudie principalement la dynamique d'incorporation des nutriments acquis lors du nourrissage sur l'hôte dans les œufs par le biais d'éléments radiomarqués. Pour les insectes holométaboles, le succès reproducteur est fortement influencé par les ressources nutritives dont dispose la femelle. En complément des nutriments acquis au stade adulte, lors du nourrissage sur l'hôte par exemple, les ressources utilisées dans la production d'œufs peuvent provenir de réserves accumulées au cours du développement larvaire. C'est pourquoi nous nous intéressons également dans ce chapitre à la dynamique de gestion des réserves larvaires. L'utilisation de techniques de double radiomarquage nous permet de suivre simultanément l'incorporation dans les œufs des ressources stockées au cours du développement larvaire et des nutriments acquis au cours du stade imaginal. Les résultats obtenus soulignent l'importance des nutriments stockés dans la compréhension des flux de nutriments et dans l'obtention d'un budget énergétique global. Suite aux résultats obtenus, nous proposons différentes explications mécaniques et adaptatives concernant la dynamique de gestion des ressources nutritives en fonction de leur origine larvaire ou adulte. Nous formulons ainsi diverses hypothèses quant aux règles de stockage des nutriments et à l'organisation spatio-temporelle des lieux de stockage.

L'investissement parental, abordé au cours du chapitre précédent, est une des composantes essentielles du succès reproducteur d'un individu. Le chapitre 3 précise la dynamique d'allocation des ressources nutritives dans la reproduction et se focalise plus précisément sur le compromis évolutif entre le nombre de descendants produits et leur '*fitness*' respective. Il explore notamment l'influence de l'âge des femelles sur leur effort reproducteur et sur les conséquences d'une telle stratégie pour la '*fitness*' des descendants et de la mère. A l'aide d'une approche multi-factorielle combinant à la fois les caractéristiques physiques (taille) et biochimiques (composition en lipides, glucides et protéines) des descendants nous cherchons à tester la valeur adaptative de la stratégie d'investissement développée par les femelles *E. Vuilletti.* Cette approche nous permet en outre de confirmer la nécessité d'envisager les problèmes de stratégies évolutives sous un angle multi-factoriel et de préciser quelques aspects déterminants dans la gestion des ressources nutritives pour *E. vuilletti* notamment en relation avec la gestion des ressources lipidiques.

Le chapitre précédent souligne le rôle déterminant des facteurs physiologiques limitants dans les stratégies développées dans les organismes. Dans le chapitre 4, nous abordons les capacités de lipogenèse chez les hyménoptères parasitoïdes à l'aide de techniques colorimétriques combinées à des techniques de marquage radioactif. Les résultats obtenus nous permettent de discuter le caractère limitant des lipides chez *E. vuilletti.* Ils nous permettent également d'apporter quelques réflexions quant aux stratégies optimales d'allocation des ressources chez cette espèce mais également dans un cadre évolutif beaucoup plus large, les résultats obtenus étant potentiellement communs à tous les hyménoptères parasitoïdes.

La discussion générale présente une synthèse de l'ensemble des résultats obtenus replacée dans le cadre des modèles dynamiques à variables d'état, approche modélisatrice incorporant explicitement la physiologie des organismes. Cette discussion vise à démontrer que l'intégration de la physiologie nutritive dans les études de comportements et de traits d'histoire de vie est indispensable à la compréhension de l'écologie des parasitoïdes, et plus globalement à la compréhension de l'écologie de tout organisme. Elle met également en évidence les apports essentiels d'une approche intégrative ainsi que les principaux facteurs à prendre désormais en compte pour développer des modèles prédictifs réalistes.

-1-

The physiology of host-feeding in parasitic wasps: implications for survival

D. Giron, A. Rivero, N. Mandon, E. Darrouzet and J. Casas. 2002. Functional Ecology **268**, 1231-1237.

Introduction

The nature of nutritional resources, and the rules governing the allocation of these nutrients in the organism, are arguably some of the most important and least understood elements in behavioural and evolutionary ecology (Boggs 1992). One of the systems where the connection between the ecological and physiological aspects of nutrition has been most explicitly made is in parasitoid wasps (Rivero & Casas 1999a). Parasitoids are excellent models for testing theories concerning the evolution of behaviour and life-history strategies (Charnov & Skinner 1984; Godfray 1994; Charnov & Skinner 1985; Quicke 1997) and for integrating such knowledge into multitrophic population ecology (Hassell 2000; Hochberg & Ives 2000). Females search the environment for hosts (usually other insects) in which to lay their eggs. In addition, in many species females must also feed from the host in order to obtain the nutrients necessary for egg production. Often, however, host-feeding is either incompatible with laying an egg or can reduce the quality of the host for the developing larvae (Jervis & Kidd 1986; Heimpel & Collier 1996). Host-feeding females are thus faced with a decision that epitomises the evolutionary trade-off between current and future reproduction: whether to use the host for egg-laying or for feeding.

Host-feeding in parasitoids has been the target of many theoretical studies that have aimed to predict the optimal physiological and environmental conditions under which a female should bypass an opportunity for current reproduction in order to feed from the host and increase her future reproductive opportunities (Jervis & Kidd 1986; Mangel 1989; Chan 1991; Kidd & Jervis 1991a; Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994; Collier 1995a; Heimpel *et al.* 1998). The predictions of these models, however, rely heavily on the nature and function of host-feeding. In particular, a key assumption of the models is whether host-feeding provides nutrients exclusively for egg production (Jervis & Kidd 1986; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994; Heimpel *et al.* 1994), exclusively for maintenance (Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993), or both (Chan & Godfray 1993; Collier 1995a; Heimpel *et al.* 1998), with different assumptions rendering drastically different results in terms of behavioural decisions. The nature and allocation of nutrients also have implications for population stability and persistence (Briggs *et al.* 1995; Kidd & Jervis 1989; Kidd & Jervis 1991b). A drain of nutrients from the same pool of resources that produces eggs, for use in maintenance, is destabilising. On the other hand, a non host-food source, complementary to host-feeding, has stabilising effects (Briggs *et al.* 1995). By contrast, in

Kidd & Jervis' model (1989) host mortality inflicted by female parasitoid wasps through feeding overrides stabilizing (and persistence-promoting) processes. Thus, results of population dynamics models show that the rules of nutrient acquisition and allocation have important consequences for the dynamics of such interactions.

The experiments carried out so far have largely consisted of comparisons of egg production and longevity in host fed and unfed females (reviewed by Jervis & Kidd 1986 and Heimpel & Collier 1996). While the positive correlation between host-feeding and fecundity appears to be ubiquitous, these studies have, however, rendered ambiguous results about the effect of host-feeding on parasitoid longevity. In some species host-feeding has no effect on longevity, in some it does, while yet in others it does only if a sugar source is also available (reviewed by Jervis & Kidd 1986 and Heimpel & Collier 1996). While this disparity may partly be due to intractable differences in the experimental conditions (Heimpel & Collier 1996; Rivero & Casas 1999a), it is much more likely to reflect interspecific differences in the nature of the nutrients consumed.

Most studies assume that host-feeding parasitoids consume the host's haemolymph (Leius 1961; Jervis & Kidd 1986; Jervis *et al.* 1992; Rosenheim & Rosen 1992; Briggs *et al.* 1995; Collier 1995a; Heimpel & Collier 1996). This assumption, which is based on the highly proteinaceous nature of this substance (Chapman 1998) has, to our knowledge, never been tested experimentally. In fact, a wide range of feeding behaviours (from parasitoids which puncture the host and imbibe the fluids to those that consume the entire host), and host stages consumed (from eggs to pupae), are grouped under the common banner of "host-feeding" (reviewed by Jervis & Kidd 1986 and Heimpel & Collier 1996). Host-feeding may thus involve the ingestion of a wide spectrum of nutrients, which include not only proteins but also fat body lipids, sugars and trace elements. Studying the nature and function of these nutrients at a physiological level is essential in order to understand the adaptive nature of host-feeding decisions in parasitoids.

In this study, we carried out a detailed physiological investigation of host-feeding in *Eupelmus vuilletti* (Hymenoptera, Eupelmidae) a parasitoid that feeds and oviposits in third to fourth-instar coleopteran larvae. We aimed to: (1) determine the biochemical nature of the host-feeding fluids, (2) analyse and quantify their composition and (3) test directly the effect of these nutrients on female longevity. For this purpose we interrupted females while they fed and analysed biochemically the fluids extracted. The composition of the host-feeding fluid was then compared with haemolymph samples. We then separated, identified and quantified the main sugars in the host haemolymph using TLC coupled with colorimetric techniques. We

focus our attention on sugars because they are known to be critical in determining longevity in parasitoids and other insects (Jervis & Kidd 1986; Heimpel & Collier 1996; Chapman 1998). We then proceeded to test directly the role of these sugars in female longevity through a series of microinjections that allow us to precisely dose the sugars at the appropriate concentrations. Quantity of haemolymph consumed during host-feeding was also measured. Our approach allows us to test directly and unambiguously the physiological impact of host-feeding on life history traits in parasitoids.

Materials and methods

Eupelmus vuilletti (CRW) (Hymenoptera, Eupelmidae) is a tropical solitary host-feeding ectoparasitoid of third- to fourth-instar larvae of *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleoptera, Bruchidae) infecting *Vigna unguiculata* (Fabaceae) pods and seeds. Females are synovigenic, i.e. they are born with some immature eggs and need to feed from the host in order to sustain egg production and maturation. Females, however, rarely use the same host for egg laying and for feeding (personal observation). Culturing and all experimental procedures were carried out in a controlled temperature room with a 13:11 light:dark photoperiod, a temperature cycle of 33ºC(light): 23ºC(dark), and a constant 75% humidity.

Extraction of host-feeding fluids

In this species, females feed from the host by puncturing its cuticle and creating a feeding tube with secretions from their ovipositor (Fulton 1933). The females then turn and use the feeding tube to extract the host fluids with their mouthparts. In this species, females host-feed an average of 18 times during their lives (personal observation). In this experiment, newly emerged females were deprived of hosts for 48 hours and were then placed individually in a small Petri dish (diameter 5.5 cm) with 3 hosts (fourth-instar *C. maculatus* larvae). Hosts had been previously extracted from the *V. unguiculata* seeds and placed inside a gelatin capsule following Gauthier & Monge (1999). This system allowed the observation of feeding behaviour and the extraction of the host-feeding fluids from the host-feeding tube. Once a feeding tube was constructed, the female was removed and a graduated micro-capillary connected to a manual pump was introduced inside the feeding tube. The liquid collected was immediately pumped out into a 1.5 ml Eppendorf tube placed on ice. In order to obtain a

sufficient quantity of fluid for biochemical analyses, extracts from several host-feeding events were pooled (about 10 host-feeding events per sample, 6 samples for lipid/sugar/glycogen analysis and 5 samples for protein).

Extraction of haemolymph

In order to compare the contents of the host-feeding fluids to those of haemolymph we extracted haemolymph directly from the host. Extractions of haemolymph were carried out using the same pumping system as above. For this purpose c.a. 0.7 µl of haemolymph was extracted from each host by inserting the micro-capillary in the mid-lateral side of their body. Haemolymph samples were analysed individually for each larva (33 samples for lipid/sugar/glycogen analysis and 32 samples for protein).

Whole host body extracts

60 hosts previously extracted from the *V. unguiculata* seeds were weighed (Supermicro Sartorius, Göttingen, Germany), and immediately placed individually into a 1.5 ml Eppendorf tube placed in ice where they were crushed with a micro-pestle. Whole body extracts were analysed individually for each larva (30 samples for lipid/sugar/glycogen analysis and 30 samples for protein). Results were expressed as µg/mg. For the ease of presentation and to be able compare these values directly with the values for the two other fluids (host-feeding fluids and host haemolymph compositions are expressed as µg/µl), we carried out a transformation assuming the density of whole body extract to be 1 mg/µl. This value is within the range of values for the insect body (0.915 mg/µl for lipids and 1.900 mg/µl for exoskeleton; Denny 1993).

Lipid, sugar and glycogen analyses

Quantification of the amount of lipids, sugars and glycogen in the host-feeding fluid (n=6), haemolymph (n=33) and whole host body extract (n=30) samples were carried out using a modification of the colorimetric techniques developed for mosquito analysis (Van Handel 1985a, 1985b; Van Handel & Day 1988). For this purpose, 40 µl of 2% sodium sulphate and 300 µl of chloroform-methanol (1:2) were added to each sample. After centrifugation at 180-200 g, the lipids and sugars remain dissolved in the supernatant, while the precipitate contains most of the glycogen.

For the lipid analysis, 150 µl of the supernatant was transferred into a borosilicate tube

(16x100 mm) and then placed in an ethylene-glycol heating block at 90°C to completely evaporate the solvent. 40 µl of 95% sulphuric acid were then added, and the tube re-heated at 95°C for 2 minutes. After cooling, 960 µl of vanillin reagent was added to the tube which was then left for 15 min (see Van Handel 1985b for details). Each sample was then transferred to a micro-cuvette and read in a spectrophotometer at 525 nm (DU®-64 spectrophotometer, Beckman, Villepinte, France).

For the sugar analysis, 150 µl of the supernatant was transferred into a borosilicate tube (as above) which was then placed in an ethylene-glycol heating block at 90°C to evaporate the solvent down to a few microlitres. After adding 1 ml anthrone reagent, the tubes were placed at 90°C for 15 min, then cooled and read in a spectrophotometer at 625 nm (see Van Handel 1985a).

The glycogen, adsorbed in the precipitated sodium sulphate, was washed with 400 µl of 80% methanol. Samples were then vortexed and centrifuged for 5 min at 180-200 g. Once the supernatant was eliminated, 1ml of anthrone reagent was added and the tubes were placed at 90°C for 15 min. After cooling, the samples were first filtered (Millipore®, diameter=0.45 µm), and placed in micro-cuvette and read in the spectrophotometer at 625 nm.

The calibration curves that allowed us to transform absorbances into concentrations were made with standard vegetable oil (for lipids) and glucose (for sugars and glycogen) following Van Handel (1985a and 1985b).

Protein analyses

Protein analysis was carried out using the Bradford dye-binding micro-assay procedure (Bradford 1976). Analysis of proteins cannot be made on the same samples as those used for lipids, sugars and glycogen determination and so it was carried on a separate set of samples (n=5 for host-feeding fluids, n=32 for haemolymph samples and n=30 for whole body extracts). 800 µl of physiological water (0.15M NaCl) containing 0.001% Triton X-100 (Sigma Aldrich) was added to each sample and then placed 5 days in the fridge to allow time for the Triton-X to dissolve the proteins. 200 µl of Bradford Reagent (Bio-Rad Laboratories, Munich, Germany) reactive were then added. Samples were left to react for 15 min and then read at 595 nm. Calibration curves were obtained using bovine serum albumin (Sigma-Aldrich, S^{t} Quentin Fallavier, France).

Identification and quantification of host haemolymph sugars

Thin layer chromatography (TLC) was used to identify the main sugar components of the host haemolymph. Sugars were purified from haemolymph samples (about 10 host per sample, 3 samples), which were obtained as described previously. In order to deproteinise the sample and remove all lipids, samples were mixed with 200 µl of 70% ethanol and then with 500 µl of a chloroform-methanol-water solution (2:2:1) and centrifuged at 10,000 g (Bligh and Dyer 1959).

The sugar standards (D-fructose, D-trehalose, D-glucose and sucrose) and the purified haemolymph samples were separated on 20 x 20 cm aluminum sheets pre-coated with 0.25 mm of silica gel 60 (Merck, Fontenay sous bois, France). Plates were impregnated with 0.2 M K_2HPO_4 to improve resolution (Ghebregzabher et *al.* 1976). Separations were carried out three times in the same direction with an acetonitrile : water (34:6) solvent system (Gauch *et al.* 1979).

After final development and drying, plates were impregnated with 2.5% vanillin in a sulphuric acid : ethanol (4:1) solution and then heated for 5 minutes at 120°C in a drying oven to visualise the sugars. Identification of the main host haemolymph sugars was carried out using comparisons between mobility (measured as movement relative to the solvent front -Rf- on TLC) of the standard and haemolymph samples.

Quantification of sugars using the colorimetric technique described above cannot be made on samples that have been previously treated with a vanillin reagent. Another TLC was therefore performed where the sugars were separated on the plates following the above procedure, but were not treated with the colored reagent. Instead, the positions of the sugar bands were located using the Rfs previously obtained. The individual bands of sugars were then scratched from the TLC plate, placed in borosilicate tubes and quantified using the colorimetric technique described above.

Quantification of haemolymph consumption

On the day of emergence, 50 females were weighed (Supermicro Sartorius, Göttingen, Germany) and immediately placed individually in a small Petri dish with three fourth-instar hosts (as above). Females were observed continuously until a host-feeding event took place. Females were weighted once more immediately after they finished feeding and the amount of food consumed was estimated by subtracting the weight before and after feeding.

The effect of sugars on female longevity

The TLC identified sucrose and trehalose as the main sugar components of the host's haemolymph (see results). The next step was to determine whether these disaccharides directly influence female longevity. For this purpose, different solutions were injected directly into the parasitoid haemolymph on the ventral abdominal side of newly emerged females using a micro-capillary connected to a manual pump. The extremity of the micro-capillary was introduced between the 4^{th} and 5^{th} sternite at a depth of 1.5 mm under the cuticle in order to avoid penetration of the major organs. In the injection experiments, females injected with water were used as the control group in order to ensure that the penetration of the micro-capillary was not a confounding factor. The volume of solutions injected was determined from the amount of food consumed during host feeding (see results) and in order to avoid a dramatically high mortality due to experimental manipulation. In the control group (group 1, n=20), females were injected with 1µl of pure water. Two other groups were injected with 1 µl of a sucrose (group 2, n=16) or trehalose (group 3, n=18) solution at haemolymph concentrations (4.6 and 10.6 µg/µl respectively, see results). A fourth group was injected with 1 µl of a mixture of these two sugars at haemolymph concentrations (group 4, n=26). In the last group, experimental females were injected directly with 1 µl of host haemolymph (group 5, n=15) which had been obtained from hosts following the protocol described above. Once injected, females were placed in small Petri dishes and kept at room temperature to allow the wound to heal. Females that 'bled' profusely after injection were immediately discarded. Female survival, without access to hosts or food, was recorded every day until all females died.

Statistical analysis

Most of the distributions of the sampled populations are not normal, requiring the use of non-parametric tests. Non-parametric tests reported were carried out using SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA) or following Zar (1984). The extraction of fluids from the host-feeding tube is a very tedious and delicate exercise and many extractions from several tubes are required to obtain enough materials for a single analysis. This explains the difference in samples size between samples from the host-feeding fluid and the haemolymph and host body extract. Dunn non-parametric multiple comparisons tests (for unequal sample size and tied ranks, Zar 1984) were carried out to determine where the significant differences lay.

Results

The composition of whole body extracts, of host-feeding fluids and thehost's haemolymph differ widely in the amount of most of the biochemical constituents (Kruskal-Wallis test, proteins: H = 22.36, $p<0.05$; lipids: H = 50.62, $p<0.05$; sugars: H = 34.53, $p<0.05$; glycogen: H = 1.89, *NS*) (see also Fig. 1). There were no statistical differences in the amount of proteins, lipids, sugars or glycogen between the host-feeding fluid extracted from the feeding tube and the host's haemolymph (Dunn test for the difference between the components of the host-feeding fluids and the host's haemolymph, proteins: Q = 0.688, *NS*; lipids: Q = 0.686, *NS*; sugars: Q = 0.092, *NS*) (Fig. 1). In contrast, whole body extracts were widely different from the host-feeding fluids (Dunn test, proteins: Q = 2. 971, $p<0.05$; lipids: Q = 3.284, $p<0.05$; sugars: Q = 3.041, $p<0.05$) and from the host's haemolymph (proteins: Q = 4.347, $p<0.05$; lipids: Q = 7.029, $p<0.05$; sugars: Q = 5.101, $p<0.05$) (Fig. 1).

The two main sugars in the host haemolymph were identified as the disaccharides trehalose and sucrose (Table 1). Trehalose is the most abundant (mean±s.e = 10.58 $\pm$ 0.32 µg/µl), followed by sucrose (4.20 $\pm$ 0.44 µg/µl). Disaccharides thus constitute at least to 85% of the total sugars present in the haemolymph (61% trehalose and 24% sucrose). Preliminary experiments suggest that the remaining 15% sugars are more likely to come from other sugar types present at concentrations too low to be detected by the TLC, rather than to errors in the quantification of the target sugars.

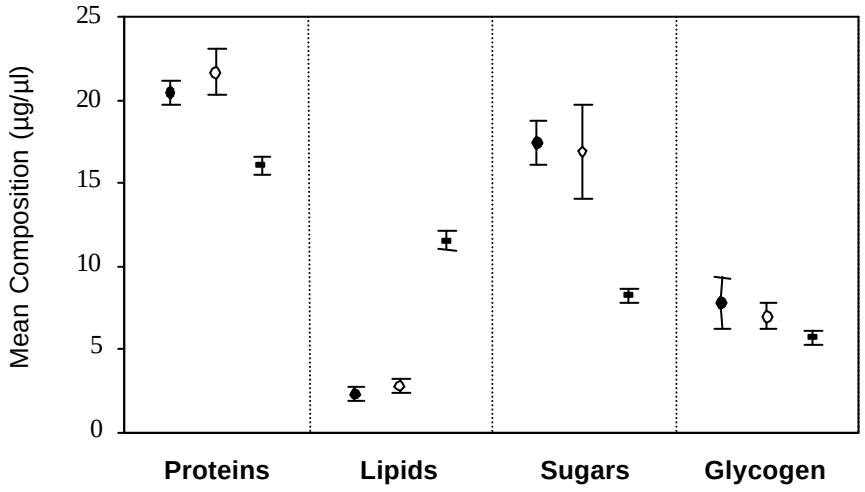


Figure 1. Mean composition of *C. maculatus (host)* haemolymph (●), host-feeding fluid consumed by the parasitoid *E. vuilletti* (○) and whole host body extract (▪). Mean composition of proteins, lipids, sugars and glycogen (mean $\pm$ error standard) are expressed in µg/µl.

Table 1. Identification of the main haemolymph sugars from Callosobruchus maculatus, using comparisons between mobility of sugar standards and main haemolymph sugars on Thin Layer Chromatography (mobility measured as movement relative to the solvent front, Rf).

Source	Sugar type	Rfs
Haemolymph samples	Sugar 1	0.05
	Sugar 2	0.11
Sugar standards	Trehalose	0.05
	Sucrose	0.11
	Glucose	0.21
	Fructose	0.27

Females gained an average of 0.2584 $\pm$ 0.1716 mg per host-feeding. The volume of solutions injected corresponds to the volume of fluid obtain from four host-feeding events and all solutions injected lead to a similar survival rate (about 85%). The injection of sugars into the female's haemolymph resulted in different female longevities (Fig. 2) (Kruskall-Wallis test, H=14.79, $p<0.05$). While single injection of either sucrose or trehalose at haemolymph densities did not increase survival (Dunn test between groups 1 and 2, Q=0.228, *NS*, and between groups 1 and 3, Q=0.695, *NS*), the simultaneous injection of sucrose and trehalose at haemolymph concentrations as well as the direct injection of haemolymph, increased survival significatively (Dunn test between groups 1 and 4, Q=2.810, $p<0.05$, and between groups 1 and 5 Q=2.926, $p<0.05$). Injection of trehalose and sucrose simultaneously, increased survival of females as much as injection of host haemolymph (Dunn test between groups 4 and 5, Q=0.557, *NS*). The simultaneous injection of trehalose and sucrose at haemolymph concentrations and the injection of host haemolymph lead to a mean survival gain of 1.27 and 1.61 days respectively, compared to the controls, which corresponds to an increase in longevity of 22% for 4 host-feeding events (see Fig. 2).

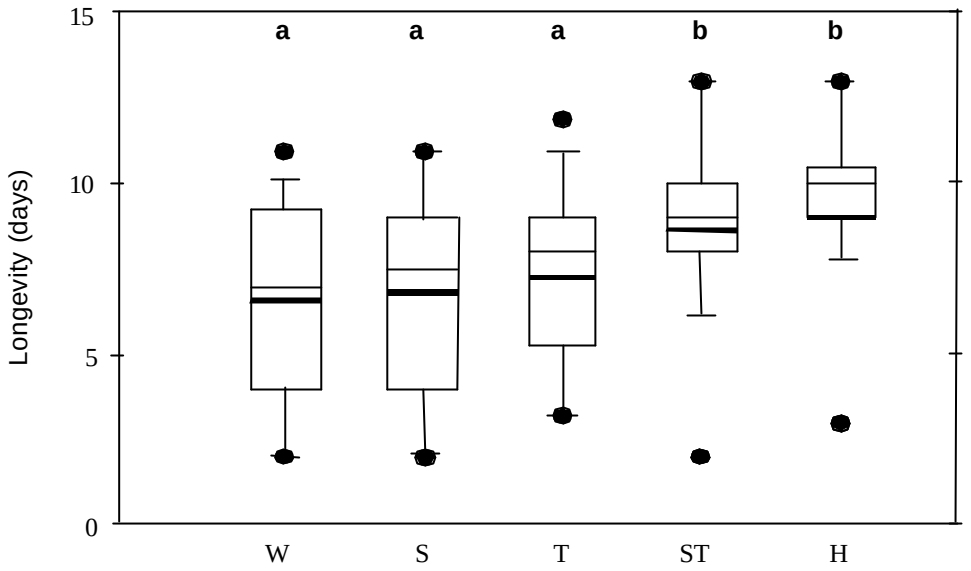


Figure 2. Effects of the injection of Water (**W**), Sucrose (**S**), Trehalose (**T**), Sucrose+Trehalose (**ST**) and host Haemolymph (**H**) on the longevity of the parasitoid *Eupelmus vuilletti*. The thin horizontal line of each box plot marks the median of the sample and the thick horizontal line marks the mean of the sample. Black dots correspond to the minimum and maximum longevity recorded for each treatment. Statistical differences between means are shown by letters (a, b).

Discussion

The lipid, sugar, glycogen and protein composition of the host-feeding fluid extracted from the feeding tube is not significantly different from the composition of the haemolymph extracted directly from the host. In contrast, whole body extracts differ widely in the amount of most of the above constituents, showing, in particular, a much higher level of lipids. These results provide strong evidence that *E. vuilletti* consumes the host's haemolymph during a host-feeding event. Females fed on average 18 times during their life (personal observation) and in each feeding event they ingested an average of 0.258µl of haemolymph (haemolymph density is roughly 1; Hoffman 1995).

The haemolymph of fourth-instar *C. maculatus* larvae was found to be high in sugars and proteins but low in glycogen and lipids. These results are highly consistent with previous studies where the haemolymph composition of insects has been quantified (Wyatt 1961; Florkin & Jeuniaux 1964; Mullins 1985; Chapman 1998). The disaccharides trehalose and sucrose were identified as the most abundant sugars in the host's haemolymph. Trehalose is known to be the main sugar in insects' haemolymph, where it is the key energy storage

molecule (Florkin & Jeuniaux 1964; Chapman 1998). The trehalose concentration we obtained (10.6 µg/µl) is also very consistent with that obtained in other Hymenoptera and in Coleoptera (*Apis mellifera* 10.4 µg/µl, *Tenebrio molitor* 15.5 µg/µl, *Periplaneta americana* 15.3 µg/µl, *Heliothis zea* 10.4 µg/µl; see Fell 1990 and Leta *et al.* 1996). The presence of sucrose seems less common but has also been reported in butterfly larvae (Bounias 1983).

Experiments in which the effect of different adult diets on fecundity and longevity are compared (reviewed by Jervis & Kidd 1986 and Heimpel & Collier 1996) suggest that, in general terms, the proteins obtained from host-feeding serve to meet the high amino acid demands associated with egg production. These results have been confirmed by direct tracking of the incorporation of radioactively labelled amino acids into the eggs (Rivero & Casas 1999b; Rivero *et al.* 2001). Far less clear is the role of other nutrients present in the haemolymph, particularly the highly concentrated disaccharides. Sugar is known to have a critical effect on longevity of most parasitoids tested so far (reviewed by Jervis & Kidd 1986 and Heimpel & Collier 1996). The emphasis of most studies has however been on sugars that occur naturally in nectar or honeydew such as glucose, sucrose and fructose. In addition, in most cases females have been fed *ad libitum*. In contrast, we decided to concentrate our attention on how the two main haemolymph sugars influence female longevity when injected into the females at precise concentrations.

The simultaneous injection of trehalose and sucrose at haemolymph concentrations significantly increased the longevity of the females. In addition, females directly injected with haemolymph showed the same longevity as those injected only with a combination of the two sugars. These results thus identify the haemolymph sugars trehalose and sucrose as the main resources responsible for the increase in female longevity in host-fed females. Other haemolymph constituents, such as glycogen, proteins, and lipids probably have no or a very limited impact in this species.

The nature of nutritional resources and the pattern of allocation of nutrients are both fundamental aspects of the life-history of organisms and, as such, have critical consequences for fitness (Roff 1992; O'Brien *et al.* 2000, Jervis *et al.* 2001, Rivero *et al.* 2001). The role of specific sugars in determining longevity either directly or indirectly is a widespread phenomenon in insects, including parasitoids (Quicke 1997; Chapman 1998; Olson *et al.* 2000). We have shown that in our system the host's haemolymph is a rich source of such sugars and that host-feeding provides key nutrients for maintenance; as little as three host-feeding events increase the lifetime by one day. This positive relationship between number of host-feeding events and longevity is linear across all feeding events occurring during the

animal's lifetime (unpublished data).

Our study is the first to identify the constituents of host-feeding meals and to provide a manipulative proof that hemolymph sugars are solely responsible for increased longevity in *E. vuilletti*. Further studies need to be carried out to know the exact composition of the host feeding meal in other parasitoid species and to correlate it with observed life history traits. Quantitative and qualitative differences in the host feeding diets could explain the disparity between the extent of host-feeding gain and female food choices between parasitoid species. In particular, we suggest that the presence of sugars at sufficient concentrations in the host feeding meal may be a strong predictor of whether female parasitoids need to embark on costly nectar foraging trips (Jervis *et al*. 1993; Sirot & Bernstein 1996). The fact that some species of parasitoids are not able to survive by feeding on the host alone could also be explained by differences in the composition of the feeding meal. *Aphytis melinus*, for example, is likely to feed mostly on the sugar-poor fat body of their host which may explain their incapacity to survive more than 3 days without an extra sugar source (Heimpel *et al.* 1997). A low level of haemolymph sugars could also explain the observation made by Heimpel & Collier (1996) and subsequently by Heimpel *et al.* (1997) in (*A. melinus*) where host feeding only had an influence in longevity if the parasitoid was also allowed to feed on sugar. However, differences in the ability of different species to utilize the ingested sugars should also be taken into account.

Here, we examined only one aspect of the relationship between nutrition and life-history - that between haemolymph sugars and longevity. Further studies need to be carried out to determine the relative contribution of the different host feeding components to egg production and longevity. Such information would allow us to make stronger statements regarding the role of nutrient acquisition in reproductive decisions such as the trade-off between current and future reproduction. In addition, the magnitude of the drain of nutrients towards maintenance and the slope of the relationship between the amount of reserves and mortality, can have consequences for the stability of host-parasitoid population dynamics (Briggs *et al*. 1995). While the estimation of the relative magnitudes of these two parameters is the object of current experiments, the unexpected high increase in life expectancy per host-feeding event is a strong incentive contributing to the development of realistic, physiologically structured host-parasitoid population models. Parasitoid systems illustrate how, although nutritional physiology, behaviour, life-history and population dynamics are often studied independently, their integration can be essential in order to understand an organism's ecology.

-2-

Lifetime allocation of juvenile and adult nutritional resources to egg production in a holometabolous insect

A. Rivero, D. Giron and J. Casas. 2001. Proceedings of the Royal Society London B **268**, 1231-1237.

Introduction

The pattern of allocation of nutritional resources to reproduction has critical consequences for the fitness of organisms and is fundamental to numerous fields of research in behavioural, evolutionary and population ecology (Roff 1992). Organisms with life cycles consisting of several, well differentiated, life stages are particularly interesting from the point of view of resource allocation decisions (Boggs 1981). Multi-stage life cycles allow the exploitation of different types of environments by the same individual (Wilbur 1991) with the consequent qualitative and quantitative differences in the type of nutrients available to the juvenile and adult stages. In addition, the allocation of nutritional resources is partitioned between the stages, with juvenile resources being mostly invested in growth, while adult resources are mostly invested in reproduction (Truman & Riddiford 1999). During the complex process of metamorphosis, however, surplus nutrients acquired by the younger stages and not used for larval maintenance are reallocated, and the adult emerges with a certain amount of reserves of juvenile origin. The quantity, quality and pattern of allocation of such juvenile reserves to egg production and survival are key aspects of the life history of multi-stage organisms. Questions such as how many of the juvenile resources should be allocated for reproduction and how many saved for survival or whether these resources should be spent at the beginning of the adult life or saved in the event of future food shortages will bear key consequences for the fitness of individuals and for the resiliency of natural populations to changes in adult food availability (Boggs 1997a; Boggs 1997b).

Two possible scenarios for the allocation of juvenile and adult-derived resources have been proposed for holometabolous insects, the group of organisms where the transition between life stages, and the ensuing reallocation of resources, is one of the most drastic ones found in nature (Boggs 1997a; Boggs 1997b; O'Brien *et al.* 2000). Firstly, larval and adult-derived nutrients may constitute a common pool, or pure mix, of resources. The concept of a single pool of nutrients from where resources are allocated to either reproduction or survival was implicit in Van Noordwijk & De Jong's, (1986) original Y model of resource allocation and has been adopted as a convenient conceptual framework in some of the classic trade-off manipulation experiments (Chippindale *et al.* 1993; Tatar & Carey 1995). A second scenario, however, involves compartmentalisation of the resources available for egg production and survival. Under this second scenario three different strategies are in turn possible for the differential use of larval and adult food sources (Boggs 1997a). These three strategies

represent extremes of a likely continuum**.** First, eggs could be entirely built from adult food sources. Larval reserves would be conserved and used exclusively in adult maintenance, or resorted to for reproductive purposes only in the event of food shortages during the life span of the female. Second, eggs could be built entirely from larval reserves, until these are depleted, at which point, if necessary, they would be replaced with adult-derived nutrients. Finally, both larval and adult food sources could be invested in egg production throughout the lifetime of the female, at a certain rate which could be constant or vary with time. The strategy chosen should depend on two factors: the timing of feeding with respect to reproduction (with its two extremes represented by autogeny, where eggs can be produced without adult food, and anautogeny where females need to feed to be able to produce eggs) and the quantity, quality and predictability of adult food sources in the environment (Karlsson 1994; Boggs 1997b; Oberhauser 1997).

Some of the most comprehensive theoretical models of resource allocation to reproduction and survival have been developed with the purpose of predicting female reproductive behaviour in a group of insects known as parasitoid wasps (Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994; Godfray 1994; Heimpel *et al.* 1994; Collier 1995a; Heimpel *et al.* 1998). These models have provided us with an unprecedented understanding of the behavioural trade-offs and physiological constraints faced by foraging insects. The wide range in parasitoid nutritional requirements and on the potential of the different types of adult food for egg production and survival (Rivero & Casas 1999a) makes them ideal models to study the pattern of larval resource use in insects. Parasitoids search the environment for hosts, usually other insects, in which to lay their eggs. Some parasitoids, so-called *synovigenic* , need to feed throughout their adult life, in many cases from the host itself, in order to produce eggs (Flanders 1950). While in some synovigenic species host feeding will provide resources for maintenance, in others the female also has to forage for sugar sources, such as nectar or honeydew for survival (Jervis & Kidd 1986; Heimpel & Collier 1996; Rivero & Casas 1999a). *Proovigenic* parasitoids, on the other hand, are born with their entire, or near entire, complement of eggs (Flanders 1950) but may rely on sugar sources for survival. In both types of parasitoids, the decisions of the females in terms of when to search for food and when to search for oviposition sites are triggered by physiological parameters. Indeed, in all the mathematical models of parasitoid behaviour developed so far, foraging decisions have been shown to be strongly dependent on the pattern of allocation of nutrients from adult food to egg production and survival (Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994; Heimpel *et al.* 1994; Collier 1995a; Sirot & Bernstein 1996).

In this paper, we quantify the pattern of allocation of larval reserves to egg production in a synovigenic parasitoid using a double radiotracer technique. We deliberately choose a parasitoid whose pattern of allocation of nutrients from adult food has been studied in detail (Rivero & Casas 1999b). *Dinarmus basalis* is a host feeding parasitoid of bruchid beetles infecting silos all over the world . Females emerge with no mature eggs in their ovarioles and although they will feed immediately after emergence, it takes 4-5days for the nutrients taken with the first meal to be fully invested in the eggs (Rivero & Casas 1999b). Females in the presence of hosts will feed regularly and feeding contributes to egg production, survival and storage (Rivero & Casas 1999b). Although host feeding is rarely concurrent (i.e. females will not usually both feed and lay an egg in the same host), hosts are found in patches (several hosts per infected bean, groups of beans) and thus feeding and reproductive opportunities are likely to be correlated. The nutritional ecology of this species allows us two make two specific predictions about its pattern of allocation of larval reserves: (a) given the delay in the appearance of nutrients in the eggs after the initial host meal larval reserves should be the main source of nutrients for egg production for 4-5 days after emergence and (b) given the frequent host feeding events, the high nutrient content of a haemolymph meal (Florkin & Jeuniaux 1964; Mullins 1985), and the ability of the female to store amino acids for future reproductive purposes (Rivero & Casas 1999b), larval reserves should not be invested in egg production at any other point of the female life span but saved to prolong survival in the event of host deprivation. We discuss the use of larval reserves to the specific life history and nutritional requirements of this species and compare our results with those found in butterflies and moths (Boggs 1997a; O'Brien *et al.* 2000). Alternative patterns of allocation of larval reserves in parasitoids with different life histories and nutritional requirements are proposed.

Materials and methods

Dinarmus basalis (Hymenoptera: Pteromalidae) is a host-feeding synovigenic ectoparasitoid of third- to fourth-instar larvae of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) infecting *Vigna ungiculata* beans (Fabaceae). The pattern of incorporation of nutrients from larval reserves and adult feeding into the eggs laid by the parasitoid was determined using double-label radiotracer techniques with ^{14}C and ^{3}H. The purpose of this

technique was to obtain eggs containing a ^{13}H larval pool and a ^{14}C adult feeding pool, as well as eggs containing a ^{14}C larval pool and a ^{3}H adult pool.

Marking the larval reserves

Third instar hosts were extracted from the beans and injected with either 1µl of a ^{3}H-marked amino acid mixture (37MBq ml^{-1}, ICN Pharmaceuticals) or with 2µl of a ^{14}C-marked amino acid mixture (3.7MBq ml^{-1}, ICN Pharmaceuticals). The amino acid mixtures had been previously diluted with Ringer's solution to a total activity of 7kBq ml^{-1} (for the ^{3}H mixture) or 3.5kBq (for the ^{14}C mixture) so that the total activity injected in each larva was in both cases 7kBq. Injections were carried out using a graduated micro capillary connected to a manual pump and with the aid of a binocular microscope. Injections took place on the mid-lateral side of the host's body which, our own trials showed, eliminated almost entirely the loss of bodily fluids through the wound. Larvae that "bled" profusely after the injection were immediately discarded. Injected larvae were kept at room temperature for a minimum of two hours to allow the wound to scar over and the distribution of the radioactivity within the body.

Parasitoid eggs were obtained by individually placing *D. basalis* females in small Petri dishes (diameter 5.5 cm) with two non-radioactive third-instar larvae of *C. maculatus* placed within an artificial bean made from a gelatine capsule (for details of how hosts are prepared inside the capsule see Gauthier & Monge 1999). Females were left to oviposit on the hosts for 24 h after which time one egg of each female was collected and transferred onto a randomly chosen ^{3}H- or ^{14}C-injected larvae. The rest of the eggs were used as a control for background radiation (see below). Although parasitoids will readily oviposit directly on injected larvae, this technique was preferred because it reduced considerably the manipulation of the injected larvae; parasitoids usually lay 3-4 eggs per host in a 24 h period, often on the underside of the larva, which therefore needs to be taken off the gelatine capsule and turned in order to completely eliminate any eggs in excess of one.

Once the egg had been transferred onto the surface of the injected larva, the larva was placed inside an artificial bean (as above) and the bean was kept inside a small Petri dish at 13L:11D photoperiod, 33:23^{o}C temperature and 75% humidity until the emergence of the parasitoid. The time taken by *D. basalis* to develop from egg to adult inside the gelatine capsule is the same as the normal developmental time inside a real bean, 15-16 days. The adult parasitoid breaks free from the artificial bean and into the Petri dish by biting off the

gelatine capsule. A total of 6 female parasitoids with its larval reserves marked with ^{3}H and 8 female parasitoids with its larval reserves marked with ^{14}C were obtained in this manner.

Marking the adult reserves

One day after emergence, the parasitoids with their larval reserves marked were individually weighed inside a gelatine capsule and then placed in a Petri dish (5.5 cm) with an artificial bean containing a third instar host under the above-mentioned temperature, humidity and photoperiod. The hosts had been previously injected with either ^{3}H or ^{14}C amino acid mixture (as above). Females that had their larval reserves marked with ^{3}H were provided with ^{14}C-injected hosts and vice versa. Preliminary trials had shown that females both feed and oviposit on these injected hosts. Egg laying and host feeding cannot be decoupled in this species, and although females seem to make feeding tubes at least some of the times, these feeding tubes are easily broken and thus frequency of host feeding cannot be estimated. Each day the host was removed, the eggs were extracted and the female provided with a new injected host. This process was repeated daily until the death of the parasitoid. The gelatine capsules containing the eggs were stored on a daily basis at -80^{o}C for later analysis. At the end of the experiment the female was also stored at -80^{o}C to analyse the radioactivity remaining in the body.

Sample preparation and radioactivity quantification

Quantification of the amount of each isotope incorporated into the eggs was carried out using a liquid scintillation analyser (LSA, TriCarb1900, Packard Instruments). The batch of eggs laid by each female on each day were prepared by crushing them together in a liquid scintillation tube and immediately adding 100µl of a tissue solvent (Soluene®-350, Packard). After 30 min, 1ml of the liquid scintillation cocktail (Hionic-Fluor™, Packard) was added. In order to control for background radiation in the environment, for each batch of eggs prepared one extra tube containing the tissue solvent and the liquid scintillation cocktail but no egg was used. After one hour, all tubes were read in the LSA for 15 min each and the number of desintegrations per minute (DPMs) on each side of the energy spectrum (0-15 KeV for ^{3}H and 16-156 KeV for ^{14}C) obtained. An external standard was used as a quench-indicating parameter (tSIE: the transformed Spectral Index of the External standard). In addition, an automatic efficiency control function (AEC) that makes use of the tSIE values to adjust the lower and upper energy boundaries of each isotope to compensate for differences in quench

levels between the isotopes was selected. Since larval and adult resources are marked in each female with a different isotope, each with its own specific activity and metabolic pathway, it is not possible to calculate relative investment of larval and adult food sources into eggs in terms of proportions. DPM's for ^{3}H and ^{14}C are thus reported separately.

Further, in order to control for the presence of natural radiation in the eggs, a series of control tubes were prepared by crushing unmarked eggs either singly, or in batches ranging from 2 to 7 eggs, and analysing them separately in the same way as the experimental eggs. The mean radioactivity in these unmarked eggs was very low (1.52 ± 0.69 DPMs for ^{3}H and 5.56 ± 1.06 DPMs for ^{14}C after correction for environmental radioactivity, n=7 in both cases), and was independent of the number of eggs in the batch (Kruskal Wallis test $\chi^2_6 = 7.0$, NS for ^{3}H and $\chi^2_6 = 2.3$, NS for ^{14}C). This lack of correlation between DPM and the number of unmarked eggs in the batch suggests that in fact the DPM readings are precision errors in the radioactivity measures of the LSA rather than natural radiation associated to parasitoid eggs. However, in order to obtain a stringent measure of what was the radioactivity incorporated into the eggs as a result of our experiment, as opposed to background noise or simply error detection in the LSA, these measures were taken into account. For each isotope, the radioactivity incorporated *per egg* as a result of our experimental treatments was calculated by dividing the DPM of the egg batch, as calculated by the LSA, by the number of eggs in the batch, and subtracting the mean DPM of unmarked eggs (either 7.0 DPMs or 2.3 DPMs depending on the isotope).

The females were analysed to determine the amount of resources from larval and adult signature not invested in eggs and remaining in the body at the end of the experiment. For this purpose each female was separated into two fragments, the abdomen and the rest of the body, which were crushed, prepared and read in the LSA separately following the same exact procedure as for the eggs. In order to avoid loosing radioactivity from the body as a result of a dissection, the mature eggs remaining in the ovaries were not dissected out of the abdomen before this was crushed and read in the LSA. The values for the amount of nutrients remaining in the abdomen tissue and fat body may thus be slightly overestimated. In addition, in order to estimate the amount of larval reserves present in the body of the females at emergence, an additional group of females with the larval reserves marked with ^{3}H (n=10) and ^{14}C (n=10) was obtained as above. These females were killed on the day of emergence and the radioactivity present in the two body fragments (head-thorax and abdomen) quantified using the same procedure. The hind tibia length of all females involved in the experiment was

measured in order to control for size-related differences in resource acquisition or allocation. Non-parametric tests reported were carried out using SPSS.

Results

The mean weight and tibia length of females emerging from hosts injected with ^{3}H and ^{14}C did not differ significantly (mean ± s.e. 1.27 ± 0.07 mg and 1.25 ± 0.06 mg weight respectively, Mann-Whitney U=15.0, NS and 0.74 ± 0.014 mm and 0.76 ± 0.004 mm respectively, Mann-Whitney U=10.0, NS). Females also laid a similar mean total number of eggs in both treatments (mean ± s.e. 64.38 ± 6.62 and 75.00 ± 6.08 for females laying eggs and host feeding in ^{3}H- and ^{14}C-injected hosts respectively Mann-Whitney U= 13.5, NS). The mean number of eggs laid per day varied from 4.80 ± 0.37 and 3.89 ± 0.35 (mean ± s.e. for females laying eggs and host feeding in ^{3}H- and ^{14}C-injected hosts respectively) on the first day, to a maximum on day 5 (8.20 ± 0.37 and 8.25 ± 1.03 respectively). Egg laying decreased monotonically from day 5 onwards so that towards the end of the experiment (day 14) the mean number of eggs laid was 4.67 ± 0.67 and 3.50 ± 0.50 (for females laying in ^{3}H and ^{14}C larvae).

Table 1. Mean (± s.e.) DPMs from larval and adult origin recovered from the laid eggs, and from the head-thorax and abdomen fractions of females of the two treatments at the end of the experiment ('End', ^{3}H larval / ^{14}C adult: n=6; ^{14}C larval / ^{3}H adult: n=8) and on the day of emergence ('Start', n=10 for both treatments). Total radioactivity is calculated as the sum of eggs, head-thorax and abdomen fractions. Numbers in parenthesis are the mean (± s.e.) proportion of the total radioactivity found in each fraction calculated over the total recovered at the start and end of the experiment.

Source	Eggs		Head-thorax		Abdomen		Total	
	Start	End	Start	End	Start	End	Start	End
Larval (^{3}H)	-	5393.7 ± 751.5 (23.6 ± 1.5 %)	17024.1 ± 615.6 (71.1 ± 2.9 %)	13902.3 ± 1833.1 (60.8 ± 1.4 %)	6928.6 ± 1239.9 (28.9 ± 2.9 %)	3565.3 ± 320.3 (15.6 ± 0.8 %)	23952.7 ± 1316.4	22861.3 ± 2754.1
Adult (^{14}C)	-	6338.1±875.2 (61.7 ± 4.5 %)	-	1898.1 ± 139.9 (18.5 ± 1.3 %)	-	2039.7 ± 599.2 (19.8 ± 5.0 %)	-	10275.9 ± 1254.3
Larval (^{14}C)	-	555.6 ± 35.5 (15.0 ± 1.4 %)	4198.2 ± 438.8 (87.3 ± 1.7 %)	2600.0 ± 316.4 (70.4 ± 3.1 %)	611.5 ± 53.6 (12.7 ± 1.7 %)	537.4 ± 90.9 (14.6 ± 2.6 %)	4809.7 ± 462.1	3693.0 ± 369.4
Adult (^{3}H)	-	7352.5±1027.7 (45.8 ± 3.6 %)	-	5086.2 ± 811.8 (31.7 ± 4.6 %)	-	3611.6 ± 517.0 (22.5 ± 1.6 %)	-	16050.3 ± 1779.1

Larval nutrients incorporated into the egg marked with ^{3}H rendered higher total DPMs than nutrients marked with ^{14}C (Table 1). This is likely to be due to the ten-fold difference in the specific activity of the two isotopes. Although the low DPMs in the ^{14}C treatment resulted in higher errors, the incorporation of larval nutrients marked with both isotopes followed a similar pattern. The maximal incorporation of resources with a larval signature occurred on day 1 (mean ± s.e. 300.60 ±40.56 and 24.66 ± 1.67 DPMs for ^{3}H and ^{14}C respectively), decreasing thereafter and levelling off from ca. day 6 onwards (at around 20-30 DPMs for reserves marked with ^{3}H and 1-5 DPMs for ^{14}C respectively) (Figs 1a and 2a).

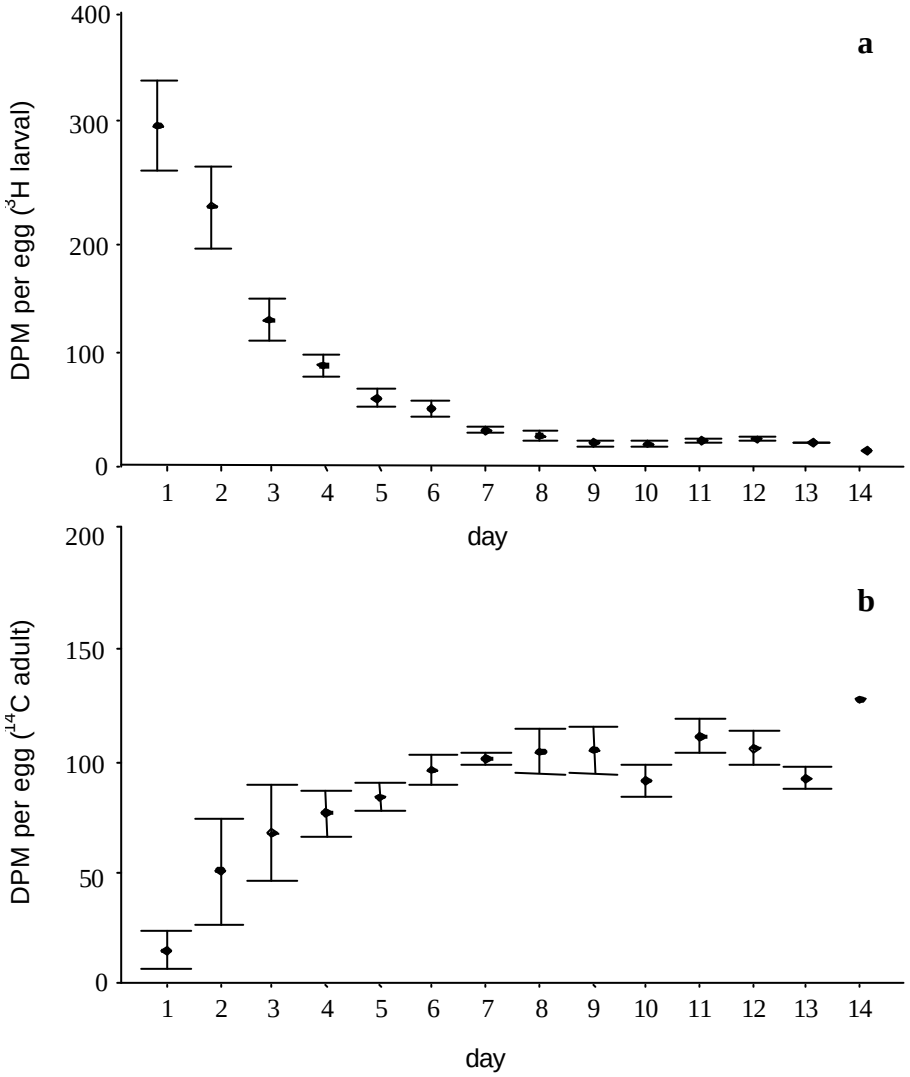


Figure 1. Time course of appearance of radioactivity in the eggs produced by females with their larval reserves marked with ^{3}H (a) and their adult reserves marked with ^{14}C (b). Values shown are mean radioactivity per egg (see text for details).

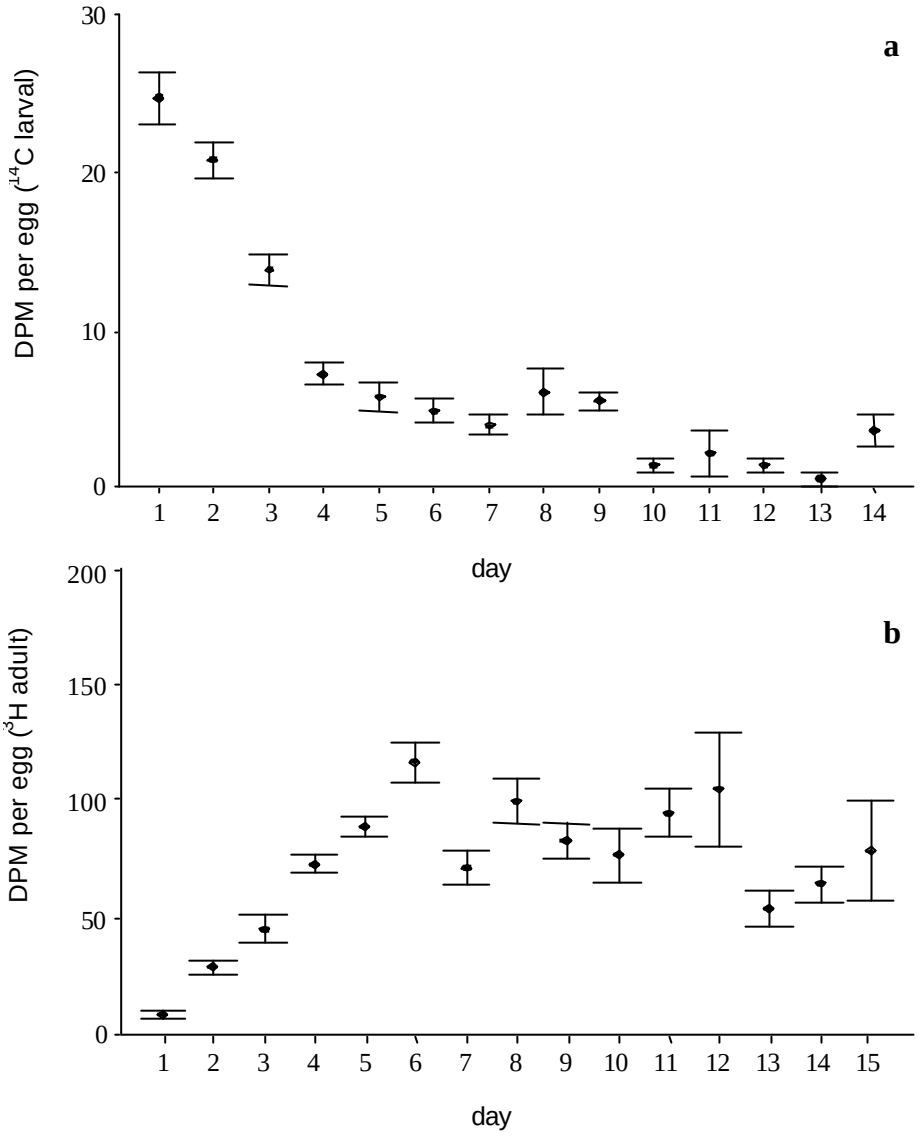


Figure 2. Time course of appearance of radioactivity in the eggs produced by females with their larval reserves marked with ^{14}C (a) and their adult reserves marked with ^{3}H (b). Values shown are mean radioactivity per egg (see text for details).

The total radioactivity from adult food recovered in eggs was however independent of the isotope used (Table 1, Mann-Whitney U= 11.0, NS)). The reasons for why the ten-fold difference in specific activity between the two isotopes is detected in the larval reserves but not in the reserves obtained from adult food is not clear, but may be associated to differences in the metabolism of ingested C and H in the adult. In both treatments the incorporation of nutrients from adult food in to the eggs was minimal at the beginning of the experiment and increased with time, levelling off at around 100 DPMs from day 6 onwards (Figs. 1b and 2b)

The radioactivity recovered from the head-thorax and abdomen fractions of females at the end of the experiment and of females killed on the day of emergence, are also shown in Table 1. On emergence, over 70% (80% for ^{14}C) of the larval reserves are located in the thorax fraction. By the end of the experiment larval reserves in the thorax have decreased by an average of 18.33% (^{3}H) and 38.1% (^{14}C) while those in the abdomen have decreased by 48.5% (^{3}H) and 12.1% (^{14}C). Adult food resources, on the other hand, were recovered mostly from the eggs (Table 1), although the relative investment in eggs was higher when the isotope used was ^{14}C.

Discussion

The pattern of allocation of larval and adult-derived nutrients found in *D. basalis* confirms the existence of priority rules in the allocation of nutrients obtained in different stages of the life cycle of holometabolous insects. Larval reserves were largely found in the head and thorax fraction, which can be roughly approximated to the resources allocated to growth and somatic maintenance on emergence (Boggs 1981; Karlsson 1994; Stevens *et al.* 1999), while only a small percentage was recovered from the abdomen. In contrast, most of the adult food ingested was recovered from the abdomen fraction and from the eggs, confirming the predominant role of host feeding for egg production in this species. Larval reserves were nevertheless the most important source of nutrients for egg production in the first few days after female emergence (Figs 1a and 2a). As predicted, this result is in agreement with the temporal pattern of allocation of adult food into eggs found in this species (Rivero & Casas 1999b). Female *Dinarmus basalis* require 4-5 days to make full use of its first host-meal for egg production after emergence. During this time egg production requirements are subsidised with the resources accumulated as a larva. The investment of larval reserves in egg production decreases in subsequent days as the female accumulates nutrients from host feeding until it reaches a baseline level from ca. day 6 onwards. This baseline level represented a as much as 10-20% of the maximum larval-derived egg DPMs, which where found on day 1. Therefore, contrary to our second prediction, larval reserves contribute to egg production throughout the lifetime of the female. Interestingly, this result is similar to that found in Lepidoptera, the only other system where, to our knowledge, the temporal pattern of larval resource allocation has been quantified (Boggs 1997a; O'Brien *et al.*

2000). Here it has been suggested that the prolonged contribution of larval reserves to egg production stems from a compartmentalisation of larval and adult food sources into two separate pools (O'Brien *et al.* 2000). In addition to a pure mix pool where nutrients from larval and adult origin mix and from where allocation of nutrients to egg production depends simply on the relative concentration of each of the two types of nutrient in the pool, there would be a non-mix pool of larval origin. This pool would provide nutrients to the eggs independently and constantly throughout the life of the female.

The existence and nature of the prolonged contribution of larval reserves to egg production can be explained in different ways. The explanation favoured by O'Brien *et al.* (2000) in their moth system is the existence of one or several nutrients essential for egg production that are found in larval reserves but that cannot be found by the foraging adult. The existence of such a limiting or "key" nutrient would arise either through differences in the foraging habits and type of nutrients obtained by the larval and foraging stages, or through differences in the metabolic paths available to each of the stages. Unlike moths and most other holometabolous insects where the diet and feeding habits of the juvenile and adult stages are drastically different, parasitoids are unique in that adults and larvae feed from the same resource: the host. However, in many species of parasitoid, and such is the case in *D. basalis*, the adult parasitoid only feeds from small amounts of haemolymph that exude from punctures in the host cuticle (Jervis & Kidd 1986) while the larval stages consume the entire host, including not only the haemolymph, but also the fat body, digestive tract etc. Comparison of the pattern of allocation of larval resources in strictly haemolymph feeders and in parasitoids that consume the entire host (Jervis & Kidd 1986) would be useful in determining to what extent differences in juvenile and adult diets give rise to the results obtained. If proven, the existence of a key nutrient would have critical consequences for our understanding of the significance of the holometabolous lifestyle. In moths, the use of stable isotopes is likely to go a long way towards answering this question (O'Brien *et al.* 2000).

Alternatively, the pool of nutrients providing a prolonged contribution of larval reserves to eggs may be the result of an anatomical compartmentalisation of stored nutrients. The functional significance of the clear regional and structural differentiation within the fat body, the main storage and metabolic organ in insects, has been little explored (Haunerland & Shirk 1995). In addition, mobilisation of other tissues, notably muscles, for egg production and maintenance is a well known phenomenon in insects (Usherwood 1975; Stjernholm & Karlsson 2000). In this experiment the mean reduction in abdomen radioactivity of larval origin between the beginning and the end of the experiment was lower than the amount

invested in egg production (see Table 1). This shows conclusively that some of the teneral resources for egg production came not from the abdominal fat body, but from the head and/or thorax, commonly known to be constituted mostly of flight muscles (Stevens *et al.* 1999). The results obtained could thus be due to differences in the rate of mobilisation of nutrients stored in different types of tissues. Alternatively, there is the possibility that organs or tissues in the reproductive tract and closely associated to egg production (nurse cells or accessory glands), could have simply retained a larval radioactive signature which would automatically 'mark' all the eggs.

Further studies are required in order to determine whether the observed pattern of larval resource allocation has a simple mechanistic explanation, or whether it has an adaptive basis. If adaptive, similar studies in parasitoids exhibiting different life histories and nutritional requirements should be expected conform to a series of predictions. In non host-feeding parasitoids, particularly those that produce yolk-rich eggs (e.g. *Leptomastix dactylopii* , Zinna 1959), larval reserves constitute the main source of protein and are therefore logically expected to play a high and uniform role in egg production throughout the lifetime of the female. Parasitoids in which host feeding provides nutrients for egg production but not survival (e.g. *Aphytis melinus*, Heimpel & Collier 1996) may, on the other hand, be expected to conserve larval resources for maintenance in order to reduce the need to invest in costly sugar-foraging trips (Sirot & Bernstein 1996). Similarly, parasitoids with very short expected longevities, due to for instance intense predation pressure, (e.g. *A. aonididae* Rosenheim *et al.* 2000) should be expected to rely entirely on their larval reserves for egg production. In addition, systems where one can experimentally de-couple host feeding and egg laying (Collier 1995b) are particularly interesting to test the plasticity of larval reserves allocation to egg production in parasitoids faced with environmental variation such as changes in nutrient or reproductive opportunities. The host injection technique developed in this paper should provide a straightforward way of marking larval reserves in most parasitoid species attacking sizeable hosts.

Although there is a growing awareness of the importance of adult feeding among behavioural ecologists and theoretical population biologists, the pattern of utilisation of stored versus incoming sources in insects has been largely overlooked (Rivero & Casas 1999a). Our results call for further studies on the role and adaptive nature of larval reserve use in parasitoids. The suggestion that the body of the females may not behave as a simple pool of nutrients that gets replenished every time the insect eats, but that resources may be metabolically or anatomically compartmentalised (Boggs 1997a; Boggs 1997b; O'Brien *et al.*

2000) could have important consequences for models aiming to predict parasitoid behaviour on the basis of physiological allocation rules (Rivero & Casas 1999a; Rosenheim *et al.* 2000) and, more generally, for our understanding of the factors limiting lifetime reproduction in insects.

-3-

Mothers reduce egg provisioning with age

D. Giron and J. Casas. 2003. Ecology Letters (sous presse).

Introduction

Reproductive investment is an essential feature in the study of life histories (Smith & Fretwell 1974; Charlesworth 1980; Perrin & Sibly 1993; Einum & Fleming 2000; Roff 2002) and is fundamental to numerous fields of research in behavioural, evolutionary and population ecology (Rivero & Casas 1999a; Hochberg & Ives 2000; LaMontagne & McCauley 2001; Roff 2002). Several optimality models have been developed to predict the optimal maternal investment per offspring on the basis that reproductive strategies evolve to maximize the number of viable offspring, and thus parental fitness (Lack 1947; Stearns 1992).

One of the most widely used predictors of reproductive investment is egg size (Winkler & Wallin 1987; Sinervo & Licht 1991; Bernardo 1996). This approach assumes that 1) large eggs produce offspring with higher fitness and 2) large eggs are more costly to produce (Bernardo 1996; McIntyre & Gooding 2000; Roff 2002). These assumptions are however largely contingent on egg nutrient composition being correlated with egg size, an a priori that has rarely been tested (see e.g. Einum & Fleming 2000 for an exception). Egg size and composition are however not necessarily correlated and variation in egg composition can be ecologically and evolutionarily more important than variation in egg size (Begon & Parker 1986; Bernardo 1996; Fox & Czesak 2000). Furthermore, numerous studies have demonstrated that females could vary their investment per egg (e.g., as a function of age), a pattern reflecting physiological constraints on egg production or an adaptive strategy (Begon & Parker 1986; Clutton-Brock & Godfray 1993; Bernardo 1996; Roff 2002).

In this study, we investigated the physiology of maternal reproductive investment in the parasitoid *Eupelmus vuilletti* (Hymenoptera, Eupelmidae). We aimed to (1) quantify the amount of resources allocated to eggs throughout the lifetime of the female using both egg size and biochemical composition as indicators of maternal investment, and (2) explore the relationship between maternal reproductive investment per egg and neonate larval fitness.

Materials and methods

Eupelmus vuilletti (CRW) (Hymenoptera, Eupelmidae) is a solitary ectoparasitoid that feeds and oviposits on the third and fourth larval instars of *Callosobruchus maculatus*

(Coleoptera, Bruchidae). These Coleoptera develop during their post-embryonic instar within the pods and seeds of *Vigna unguiculata* (Fabaceae). All experiments were carried out on insects that had been raised in the laboratory at 23°C, a 13 L: 11 D photoperiod, and 75% humidity. Hosts for the experiment, were extracted from the seeds, and placed individually inside gelatin capsules (for details see Giron *et al.* 2002). This system does not alter the natural oviposition pattern of females nor their life expectancy (Giron *et al.* 2002) and allows for the number and the developmental stage of the hosts to be controlled. Furthermore, it facilitates the collection of eggs laid by the parasitoid. As a female lays several eggs per day, we will use the term 'age' for a female's age and 'oviposition rank' (position in the laying sequence) for an egg's status.

Egg size and composition

To determine egg composition during a female's life span, we carried out a first experiment whereby 70 newly emerged females were placed individually inside a Petri-dish (diameter 5.5 cm) and given one host per hour for a total of six hours (between 9am and 3pm, which corresponds to peak daily reproductive activity; D. Giron personal observation). This was repeated until the death of the female. The gelatin capsules containing the hosts were collected each day. The length (L) and the width (W) of each egg was immediately measured with a micrometer, and the volume (V) of each egg was estimated by the equation $V = (\pi \times L \times W^2)/6$ (Avelar 1993).

Quantification of lipids and sugars in eggs was carried out using a modification of the colorimetric techniques developed by Van Handel (Van Handel 1993; Giron *et al.* 2002). Protein analysis was conducted using the Bradford assay procedure (Giron *et al.* 2002). The techniques used were not sensitive enough for individual analyses of eggs. Therefore, egg composition was determined using batches of five eggs of the same oviposition rank (position in the laying sequence) but from different, arbitrarily chosen, females. Each batch was used for the colorimetric analysis of only one type of nutrient (lipids, carbohydrates or proteins). This means that our results are correlational, and we cannot assess the actual covariation of these three nutrients within eggs. The analyses were carried out on eggs from rank 1 to 40 in the laying sequence, with between 1 and 3 batches per oviposition rank and per nutrient class (rank 1 to 25: 3 batches; rank 26 to 37: 2 batches, rank 38 to 40: 1 batch). Beyond rank 40, the number of eggs obtained was too low for analysis. We evaluated the mean energy content of the eggs in each rank by converting the mean nutrient content into Joules (conversion factors:

proteins 16.0 J/g; carbohydrates 16.0 J/g; lipids 37.5 J/g; see Rivero & Casas 1999a and McIntyre & Gooding 2000).

Correlation among egg size, egg composition and offspring fitness

To determine the effects of egg size on the survival of the resulting offspring, we carried out a second experiment whereby 30 females were allowed to oviposit in the same conditions as described above. The size of each egg laid by each female during its entire life was measured and then each egg was placed individually into a gelatin capsule (without a host) until eclosion. Once emerged, larval status (alive or dead) was checked on an hourly basis by detecting the presence of a heartbeat. For this purpose the heart was observed through the cuticule with the aid of a binocular microscope. The survival of neonate larvae in the absence of a food source has been previously used as an estimate of offspring fitness (see Guisande & Harris 1995 and Diss *et al.* 1996) and was chosen here for three reasons. First, many eggs are laid near, rather than on, the host (D. Giron, personal observation). Thus, the first hours before attachment has been secured and host fluids have been obtained are a crucial phase of a neonate's life. Second, the survival criterion does not explicitly include differences in host quality, which can have a critical influence on offspring fitness (Godfray 1994). Finally, most of the studies that have failed to detect fitness advantages from large eggs have reared progeny in high-quality environments. Selection is however expected to be generally stronger in low-quality environments (Fox & Czesak 2000). The effect of egg size on offspring survival was analysed using generalized non-linear regression techniques (SYSTAT, Chicago USA).

Egg composition was determined using batches of eggs. Therefore, correlation analyses between egg size and absolute egg composition were performed using the values obtained for each batch at each oviposition rank (n=120 batches). For estimating the relative composition as function of egg size, we based our correlation analyses on the mean values obtained at each oviposition rank (n=40 batches).

Results

Theoretical studies predict that reproductive investment per egg either stays constant, increases or decreases with age (Roff 2002). Hence, egg size, lipid, carbohydrate, protein and energy contents were expressed as percentages of the mean values of the first egg laid. Moreover, this makes visual comparison of the slopes in figures 1a and 2a-d easier.

Females laid an average of 28.5±2.7 eggs over a period of 11.5±0.4 days. Egg size declined with position in the laying sequence and the last eggs laid were about 12% smaller than the first eggs (Figure 1a). Neonate larval survival, when deprived of food, was higher for larger eggs (Figure 1b). The sigmoidal shape of the relationship (non-linear regression, y = 26.32/1+74014.00*EXP(-1.37*x)) was assessed by checking for systematic linear or curvilinear behaviour of the residuals with respect to size. None was found and only 12 points of 760 had residual values higher than 1.96 (data not shown).

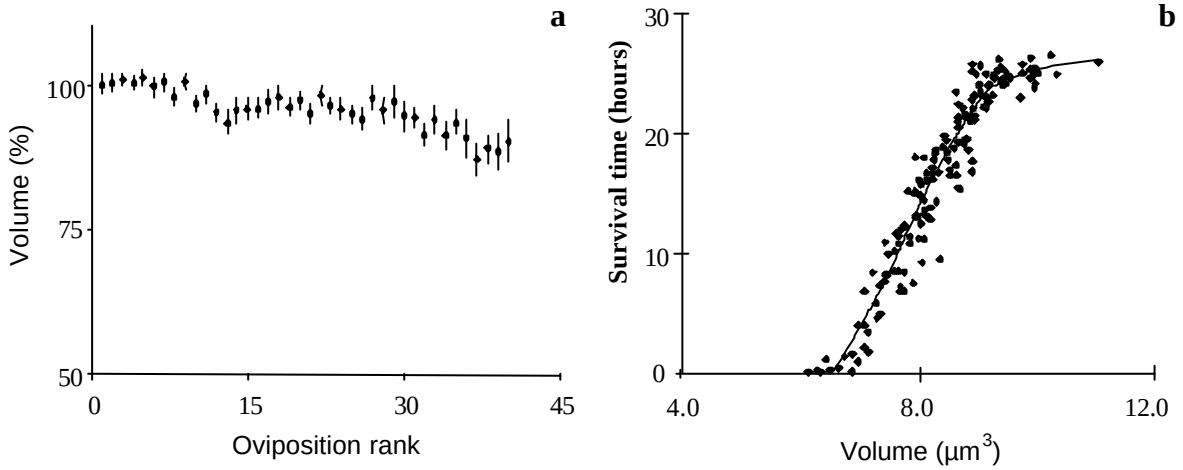


Figure 1. *Egg size.* (**a**) Egg volume (mean ± standard error) as function of oviposition rank (position in the laying sequence). Data are expressed as percentages of the mean egg volume obtained for first eggs laid (1st oviposition rank: Volume = 9.35 ± 0.16µm^3). (**b**) Survival of neonate larvae (in hours) when deprived of food as function of egg volume (in µm^3).

Egg composition decreased during the life of a female (Figure 2a-2d). The pattern of decrease in nutrient content with rank was relatively similar to the pattern observed for egg size, with the exception of lipids, which reached a stable lower value after c.a. the 13th egg (approximately 0.24µg/egg) (Figure 2a).

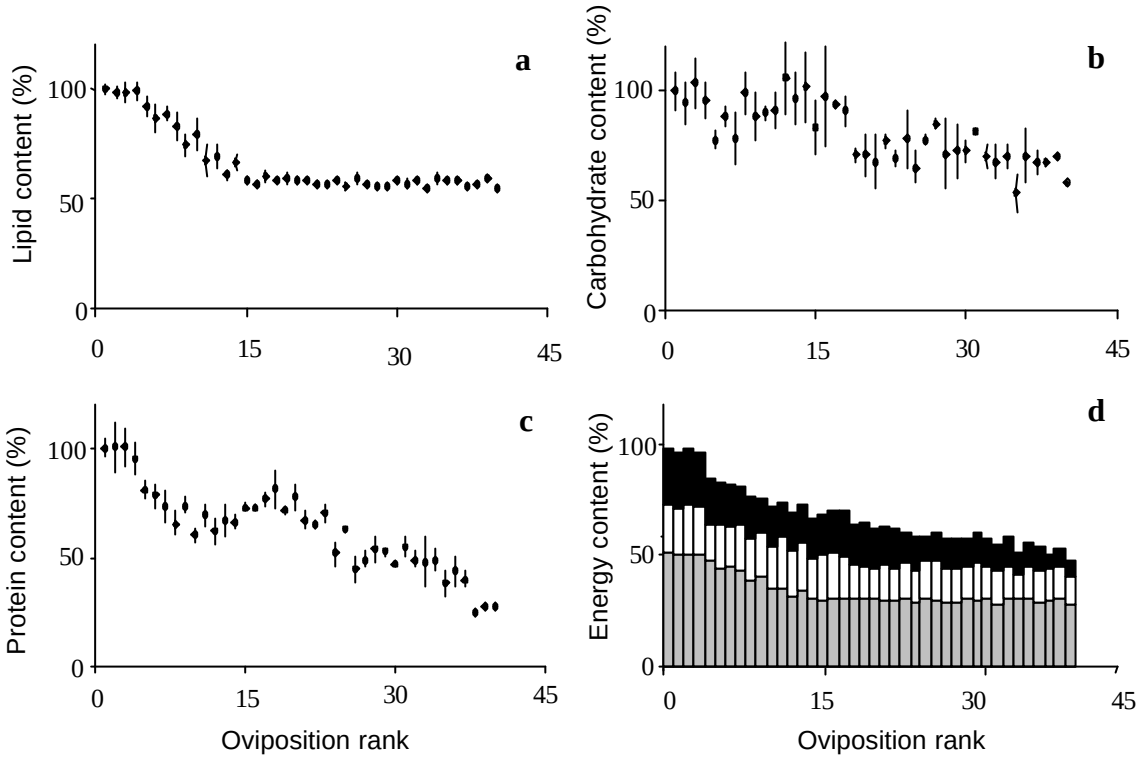


Figure 2. *Egg composition relative to the first egg.* Mean lipid (**a**), carbohydrate (**b**), protein (**c**) egg content (mean ± standard error) as function of oviposition rank (position in the laying sequence). Lipid, carbohydrate and protein contents are expressed as percentages of the mean values obtained for first eggs laid (1st oviposition rank: Lipids 0.42 ± 0.01µg, Carbohydrates 0.47 ± 0.04µg and Proteins 0.41 ± 0.02µg). (**d**) Mean energy egg content and relative contribution of lipids (grey), carbohydrates (white) and proteins (black). Data are expressed as percentages of the mean values obtained for first eggs laid (1st oviposition rank: mean energy content = 31.21 ± 0.27µJ with Lipids =52.3%, Carbohydrates = 22.0% and Proteins = 25.7% of energy content).

Lipid, carbohydrate and protein contents were correlated with egg size (lipid content r=0.67, n=120 batches and p<0.005; carbohydrate content r=0.35, n=120 batches and p<0.005; protein content r=0.75, n=120 batches and p<0.005). Moreover, the relative proportion of carbohydrate (mean±s.e. 26.05±0.46%; n=40) and protein (23.19±0.66%; n=40) varied significantly with egg size (carbohydrate percentage r=–0.49, n=40 and p<0.005; protein percentage r=0.64, n=40 and p<0.005). However, the lipid percentage (50.77±0.67%; n=40) did not vary significantly with egg size (lipid percentage r=–0.28, n=40 and p=0.080). These results suggest differences in the relative chemical compositions of small and large eggs.

Discussion

Females decreased both the size and nutrient content of eggs over the course of their lives. Based on our results, we cautiously suggest that a varying investment per egg could have important consequences for offspring fitness. Indeed, we observed the existence of a minimal egg size below which offspring cannot survive and above which their fitness increases as size increases. Fitness subsequently stabilises around a maximum.

Different alternative explanations could provide a mechanism for the reproductive pattern observed. Indeed, a reduction in reproductive maternal investment per egg throughout the lifetime of a female may be the result of some essential resource necessary for egg production gradually becoming depleted over time (i.e., resource depletion, Begon & Parker 1986; Bernardo 1996; Roff 2002). Alternatively, Begon and Parker (1986) studied how parental age could influence maternal investment per egg in terms as an adaptive strategy. Assuming that maternal fitness depends not only on the number of offspring and their individual fitness but also on a mother's survival probability, they predict that the optimal maternal strategy would be declining reproductive output with offspring with age (for details see Begon & Parker 1986). Finally, the observed decline of maternal investment per egg could be due to the intrinsic degeneration of physiological activity with age (i.e., senescence, Charlesworth 1980; Stearns 1992; Tatar 2001).

In theory, therefore, a reduction of reproductive investment per egg could be explained by physiological constraints or adaptive strategies. Our study, in examining changes in nutrient content only, cannot ascribe an adaptive or a non-adaptive explanation for the observed reduction of nutrient allocation per egg with maternal age. Moreover, we could not quantify the total amount of resources available to the females, a critical aspect of many optimality models that aim to determine how mothers should distribute a fixed amount of resources amongst offspring (Clutton-Brock & Godfray 1993; Roff 2002). A definitive test of the adaptive significance of a decrease in reproductive investment per egg with age will require some form of genetic selection or direct manipulative approaches such as physical and physiological manipulations (for specific examples see Sinervo & Licht 1991, Stearns 1992 and Fox & Czesak 2000). This includes for example, manipulation of egg size or partial removal of egg yolk. However the very small size of parasitoid eggs studied here precludes such manipulations.

Egg size is generally regarded as a good predictor of offspring fitness and the low residual variance in our regression shows that this assumption is met. However, egg size alone may hide the complex ways in which different nutrients are actually allocated by mothers to their offspring. Insect eggs contain a large amount of yolk consisting largely of lipids and proteins (Chapman 1998). The importance of proteins and lipids as energetic and structural components of eggs and larvae has been shown in a great variety of insects and other invertebrates (Guisande & Harris 1995; Diss *et al.* 1996; Chapman 1998).

Lipids are known to be the most efficient and most commonly used energy source in insects and in other groups of animals such as birds (Van Handel 1993; Rivero & Casas 1999a; Royle *et al.* 1999) and their importance in embryonic development is a well known phenomenon (Van Handel 1993; Guisande & Harris 1995). In *E. vuilletti,* the pattern of lipid decrease with maternal age rapidly attained a stable lower value of about 0.24 µg lipids/egg, suggesting that this may be the minimum required for successful embryonic development. The quantity of lipids available to *E. vuilletti* females is limited and fixed upon emergence because this species feeds on lipid-poor host haemolymph and is incapable of lipogenesis (Giron *et al.* 2002; Giron & Casas in press). Among the nutrients, protein content (both absolute and relative) correlates best with egg size. Proteins would therefore appear to be a better predictor of offspring fitness than lipids or sugars. Yolk proteins, such as vitellin, are known to be an important source of amino acids for neonate larvae and have been found to be a good predictor of neonate fitness in other insects (Diss *et al.* 1996; Chapman 1998).

The different nutrient classes of eggs could act on offspring fitness at different levels and points in time due to their different specific functions. Moreover, there is increasing evidence that key nutrients or trace elements may be essential for egg development and larval survival, and thus essential for offspring fitness (Jann & Ward 1999; Rivero *et al.* 2001; O'Brien *et al.* 2002). Future studies should take a multidimensional approach to egg composition (McGinley & Charnov 1988).

-4-

Lipogenesis in an adult parasitic wasp

D. Giron and J. Casas. 2003. Journal of Insect Physiology (sous presse).

Introduction

The nature of nutritional resources and the pattern of acquisition and allocation of incoming resources and stored reserves to reproduction and survival has critical consequences for the fitness of organisms and is fundamental to numerous fields of research in behavioural, evolutionary and population ecology (Roff 1992; Godfray 1994; Quicke 1997; Rivero & Casas 1999a; O'Brien *et al.* 2000; Jervis *et al.* 2001; Messina & Fox 2001; Rivero *et al.* 2001; Schliekelman & Ellner 2001).

Considerable amounts of carbohydrate, protein and lipid are needed by most adult insects for survival and reproduction (House 1974; Chapman 1998; Rivero & Casas 1999a). Their nutritional behaviour often reflects their physiological needs but metabolic capabilities - storage or neosynthesis- may frequently compensate for lack of adequate resources in the environment (Simpson & Raubenheimer 1995; Warburg & Yuval 1996). Insects can store large amounts of reserves in their fat body, which is their major energy storage site (Chapman 1998; Canavoso *et al.* 2001). For adults, these reserves are either carried over from the larvae or they are formed from food ingested by adults. Nutrients may also be synthesized *de novo* by the adults following ingestion of the relevant precursors (reviews by Downer & Matthews 1976; McFarlane 1985; Friedman 1985; Waldbauer & Friedman 1991).

Sugars are required by many insect species either to sustain metabolic needs or to serve as precursors. Parasitoid wasps are especially sensitive to sugar deprivation as adults (Hagen 1986; Van Lenteren *et al.* 1987; Heimpel *et al.* 1997; Quicke 1997; Olson & Andow 1998) and several species forage actively for sugar sources in the field such as nectar, pollen, honeydew or plant exudates (Rogers 1985; Hagen 1986; Jervis & Kidd 1986; May 1992; Evans 1993; Jervis *et al.* 1992, 1993; Jervis & Kidd 1996; Sisterson & Averill 2002). These sugar meals supplement carbohydrate resources gained during larval development and can be used immediately to generate energy metabolic purposes or stored for later use by conversion to glycogen (Frideman 1985; Rivero & Casas 1999a).

Lipids appear also to be determinant in the biology of most parasitoids and insects, as they are used in egg provisioning. Indeed, yolk rich eggs contain, in addition to proteins, large amounts of lipids (Troy *et al.* 1975; Kawooya & Law 1988; Giron & Casas in press; Canavoso *et al.* 2001). An important role of the lipids contained in eggs is to supply energy requirements of the developing embryo (Van Handel 1993). In parallel, lipids are generally used to fulfil the various energetic requirements of the insect body as they can be stored anhydrously, have low space requirements and release a lot of energy when burned (Clements

1992; Ellers 1996; Ellers *et al.* 1998; Rivero & Casas 1999a). Lipids used during the adult stage can therefore be available as lipids stored during the larval development, from lipids ingested with food or from lipids synthesized *de novo* by lipogenesis. Synthesising lipids from sugars could indeed permit to replenish the initial lipid stock from larval development in order to sustain the reproductive and potentially metabolic needs during the imaginal stage.

Lipogenesis is reported in a number of insect species including for example mosquitoes, grasshoppers and a great variety of butterflies (Chino & Gilbert 1965; Van Handel 1965; Nayar & Van Handel 1971; Brown & Chippendale 1974; Downer & Matthews 1976; Van Handel 1984; Warburg & Yuval 1996; Naksathit *et al.* 1999). Surprisingly, all parasitoid species studied so far seem unable to synthesize lipids from sugars (Ellers 1996; Olson *et al.* 2000; Rivero & West 2002; J. Casas, unpublished work). All these studies were conducted using feeding experiments followed by biochemical analyses. The aim of the present paper was therefore to determine the extent of lipogenesis of the parasitoid *Eupelmus vuilletti* (Hymenoptera: Eupelmidae) by conducting similar experiments as well as radiotracer studies.

E. vuilletti is a synovigenic solitary parasitoid producing yolk rich eggs during its imaginal stage. *E. vuilletti* female consumes host haemolymph during host-feeding and despite intensive surveys in the habitat, *E. vuilletti* was never observed attending others nutritional sources (J.P. Monge personal communication). Thus, host haemolymph constitutes the only source of food available for the female as adult (Giron *et al.* 2002). For *E. vuilletti,* host-feeding enables the female to obtain a large amount of proteins and sugars used to maintain the highly proteinic demand associated to egg production and the energetic costs associated to maintenance (Rivero & Casas 1999a; Rivero *et al.* 2001; Giron *et al.* 2002). However, host-feeding provides only a small amount of lipids to the female (Giron *et al.* 2002). Therefore, as lipid reserves cannot be fully replaced through feeding, females are assumed to depend either on lipids available at emergence or lipids synthesized *de novo* by lipogenesis to sustain their lipid requirements, or on both sources.

Materials and methods

Parasitoid biology

Eupelmus vuilletti (CRW) (Hymenoptera: Eupelmidae) is a tropical solitary host-

feeding ectoparasitoid of third- to fourth-instars larvae of *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleoptera: Bruchidae) infecting *Vigna unguiculata* (Fabaceae) pods and seeds. Females are synovigenic, i.e. they are born with a very limited number of mature eggs (between 2 and 4 eggs ready to oviposit) and need to feed from the host in order to sustain egg production and maturation. Females, however, rarely use the same host for egg laying and for feeding (personal observation). In this species, females feed from the host by puncturing its cuticle and creating a feeding tube with secretions from their ovipositor (Fulton 1933). The females then turn and use the feeding tube to extract the host haemolymph with their mouthparts (Giron *et al.* 2002). Females lay an average of some 28 eggs over a period of some 11 days, depending of experimental conditions. The time span of 72 hours used in our experiment (see below) corresponds therefore to about one third of the total lifetime of females.

Experimental set-up

Culturing and all experimental procedures were carried out in a controlled temperature room with a 13:11 light:dark photoperiod, a temperature cycle of 33ºC(light): 23ºC(dark), and a constant 75% humidity. Experimental females were individually placed inside a gelatine capsule (length 2 cm and diameter 0.6 cm) the cap of which had been finely pierced to allow the introduction of one of the extremes of a micro-capillary tube (length 10 cm and internal diameter 0.6 mm) containing one of the nutrient solutions.

In a first experiment, females were allowed to feed *ad libitum* from the tube for 12, 24, 36, 48 or 72 hours after which they were killed and stored by deep freezing them at –80°C for subsequent biochemical analyses. The control diet consisted of water and a second batch of females were allowed to feed on a 10% (w:v) glucose solution. A total of 15 females were allocated to each of the control and glucose treatment for each of the specified experimental period.

In a second experiment, females were allocated to one of the two following feeding treatments. The radioactively marked diet consisted of a 10% (w:v) ^{14}C-uniformly marked glucose solution (999 GBq mmole^{-1}, ICN Pharmaceuticals). The control diet simply consisted of water. Females were allowed to feed *ad libitum* from the tube for 24, 36, 48 or 72 hours after which they were killed and stored by deep freezing them at –80°C for subsequent radioactivity quantification. A total of 15 females were allocated to each of the control and glucose marked treatment for each of the specified experimental period.

Biochemical analyses

Quantification of the amount of the body lipids, sugars and glycogen of the females were carried out using the colorimetric techniques developed for mosquito analysis (Van Handel 1985a, 1985b; Van Handel & Day 1988) as modified by Giron *et al.* (2002).

Radioactivity quantification

A simple method to extract and separate lipids and sugars was used. Female parasitoids from both the control and marked diet treatments, for each experimental period, were individually prepared by crushing them in an Eppendorf tube with a glass rod in 40 µl of 2% sodium sulphate. Samples were then mixed 2 minutes with 200 µl of chloroform and 100 µl of methanol. Then each sample was mixed 30 seconds with 80 µl of ultrapure milliQ® water and then centrifuged 3 minutes at 3000 g. This technique adapted from Bligh and Dyer (1959) allowed us to obtain two layers. The lower, hydrophobic, phase is composed of chloroform and contains lipids, while the upper phase, hydrophilic phase consists of methanol and water, and contains sugars.

150 µl of each phase was recovered and placed in a liquid scintillation tube. Then, 5 ml of the liquid scintillation cocktail (Hionic-Fluor™, Packard) was added in each tube. Quantification of the amount of isotope in each phase for each female was carried out using a liquid scintillator analyser (LSA, TriCarb1900, Packard Instruments). After 1 h, all tubes were read in the LSA for 10 minutes each and the number of disintegrations per minute (DPM) calculated (using the transformed spectral index of external spectrum as a quenching indicating parameter). Increasing quantities of radioactively marked glucose were added to extraction mixture in order to measure the possible contamination of the hydrophobic phase with radioactive sugars. Females fed only with water were used in order to control for the presence of natural radiation. The mean radioactivity in these control females was considered as the background noise and was then subtracted to the measures from marked females.

Statistical analyses

The effect of time on body lipid, sugar and glycogen contents (in both starved and *ad libitum* fed females) were analysed with generalized linear modelling techniques available in the SPSS statistical package (SPSS Inc., USA). For glucose-fed females, data were also analysed using spline regression (Hastie & Tishirbani 1990; Bowman & Azzlani 1997). The

influence of radioactively marked diet on sugar and lipid contents was explored using the same generalized linear modelling technique.

Results

Nutrient analyses

Body sugars. The mean amount of body sugars present in female *E. vuilletti* upon emergence was 10.69 ± 1.01µg (n=15) (fig. 1). Body sugar level then showed a very weak but significant positive increase over the first 76 hours of the lifespan of **unfed** females (Linear regression: slope=0.07, intercept=10.68, r^2=0.12, $F_{1,88}$=12.52, p<0.05). For **glucose-fed** females, body sugar level increased rapidly over the same time interval (Linear regression, slope=1.33, intercept=50.53, r^2=0.16, $F_{1,88}$=17.94, p<0.05). A spline regression analysis showed that the pattern of body sugars in glucose-fed female can be however divided in broadly two phases. In a first phase, the body sugar level showed a positive increase, while in a second phase it levelled off, about 36 hours after emergence (fig. 1).

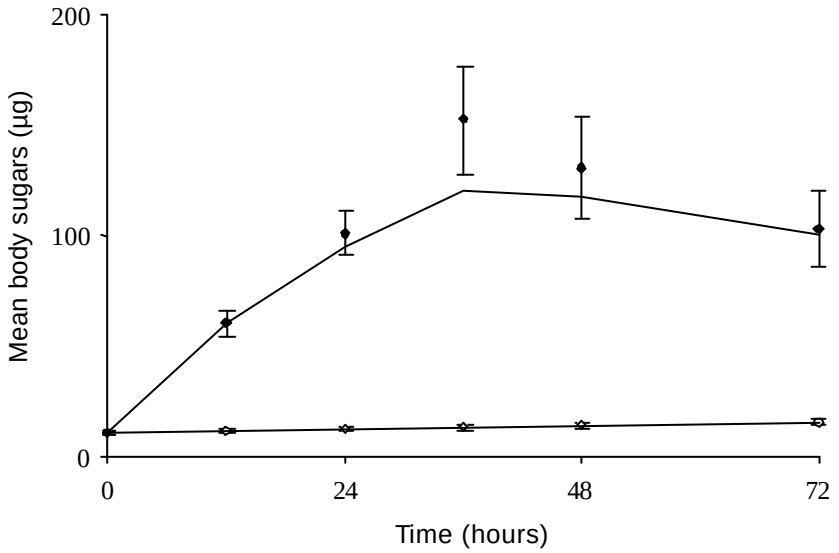


Figure 1. Mean body sugars (mean ± s.e.) measured in unfed (empty dots) and glucose-fed females (full dots) at different time intervals. For unfed females, solid lines represent linear regression of body sugars measured against time. For glucose-fed females, solid lines represent spline regression of body glycogen measured against time (Lowess algorithm, tension=0.055).

Body glycogen. The glycogen level of emerging females was 53.59 ± 4.14µg (n=15) (fig. 2). It then dropped rapidly over the first 76 hours of the lifespan of **unfed** females (Linear regression, slope=-0.40, intercept=53.63, r^2=0.40, $F_{1,88}$=59.74, p<0.05). For **glucose-fed** females, body glycogen level then increased rapidly over the same time interval (Linear regression, slope=0.85, intercept=44.74, r^2=0.64, $F_{1,88}$=158.37, p<0.05). By using spline regression analysis, the pattern of body glycogen in glucose-fed female could be however divided in broadly two phases. In a first phase, the body glycogen level remained stable, while it increased about 36 hours after emergence.

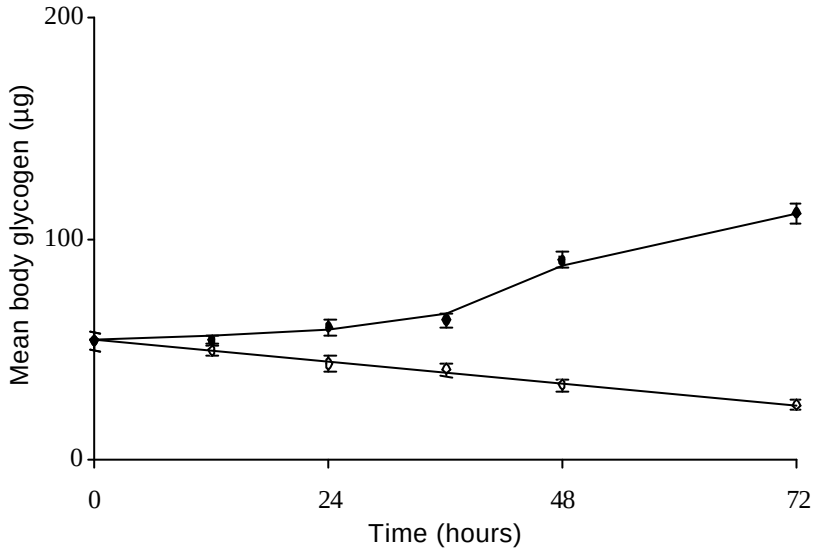


Figure 2. Mean body glycogen (mean ± s.e.) measured in unfed (empty dots) and glucose-fed females (full dots) at different time intervals. For unfed females, solid lines represent linear regression of body glycogen measured against time. For glucose-fed females, solid lines represent spline regression of body glycogen measured against time (Lowess algorithm, tension=0.050).

Body lipids. The mean estimated amount of lipids present in emerging females was 191.3 ± 9.73µg (n=15) (fig. 3). The body lipid level did not change with time for **unfed** female (Linear regression: $F_{1,88}$=1.70, *NS*), as well as for **glucose-fed** females (Linear regression: $F_{1,88}$=4.45, *NS*).

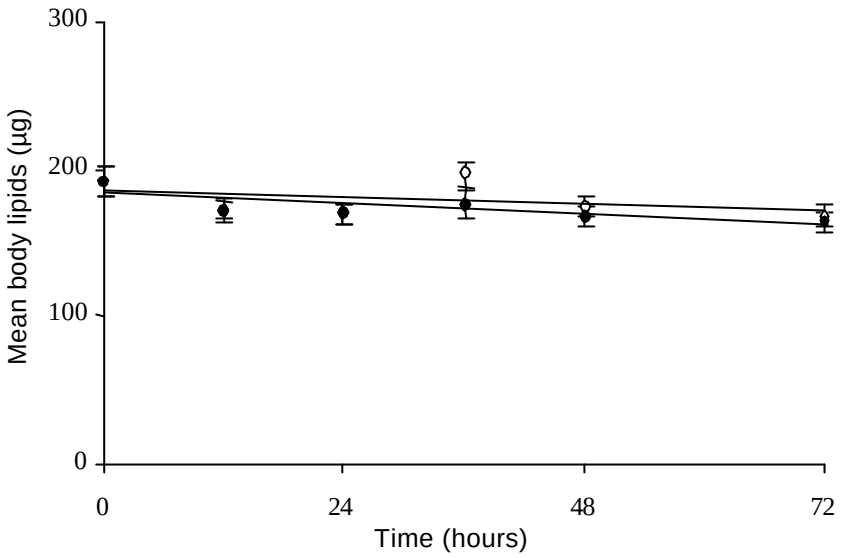


Figure 3. Mean body lipids (mean ± s.e.) measured in unfed (empty dots) and glucose-fed females (full dots) at different time intervals. Solid lines represent linear regression of body lipids against time.

Radioactivity analyses

For all tests realised, only a very weak, constant and therefore insignificant percentage of radioactive glucose was carried over into the hydrophobic phase (mean±s.e. 0.0048 ± 0.0003Bq). The level of radioactivity found in the control group was 0.28 ± 0.04Bq.

The amount of radioactivity measured in the hydrophilic fraction increased significantly with time (Linear regression: slope=42.30, intercept=-46.50, r^2=0.10, $F_{1,68}$=7.30, p<0.05) (fig. 4a). The radioactivity level measured in the hydrophobic fraction showed a very weak but significant positive increase with time (Linear regression: slope=1.72, intercept=-6.98, r^2=0.12, $F_{1,68}$=9.16, p<0.05). The increase of the amount of radioactivity measured in the hydrophobic fraction is positively correlated to the amount of radioactivity measured in the hydrophilic fraction (Linear regression: slope=0.03, $F_{1,68}$=76.45, r^2=0.50, p<0.05) (fig. 4b). The mean amount of radioactivity measured in the 'hydrophobic' fraction corresponds to 6.71 ± 0.76% of the total radioactivity obtained and the radioactivity measured in this fraction never exceed 324 Bq.

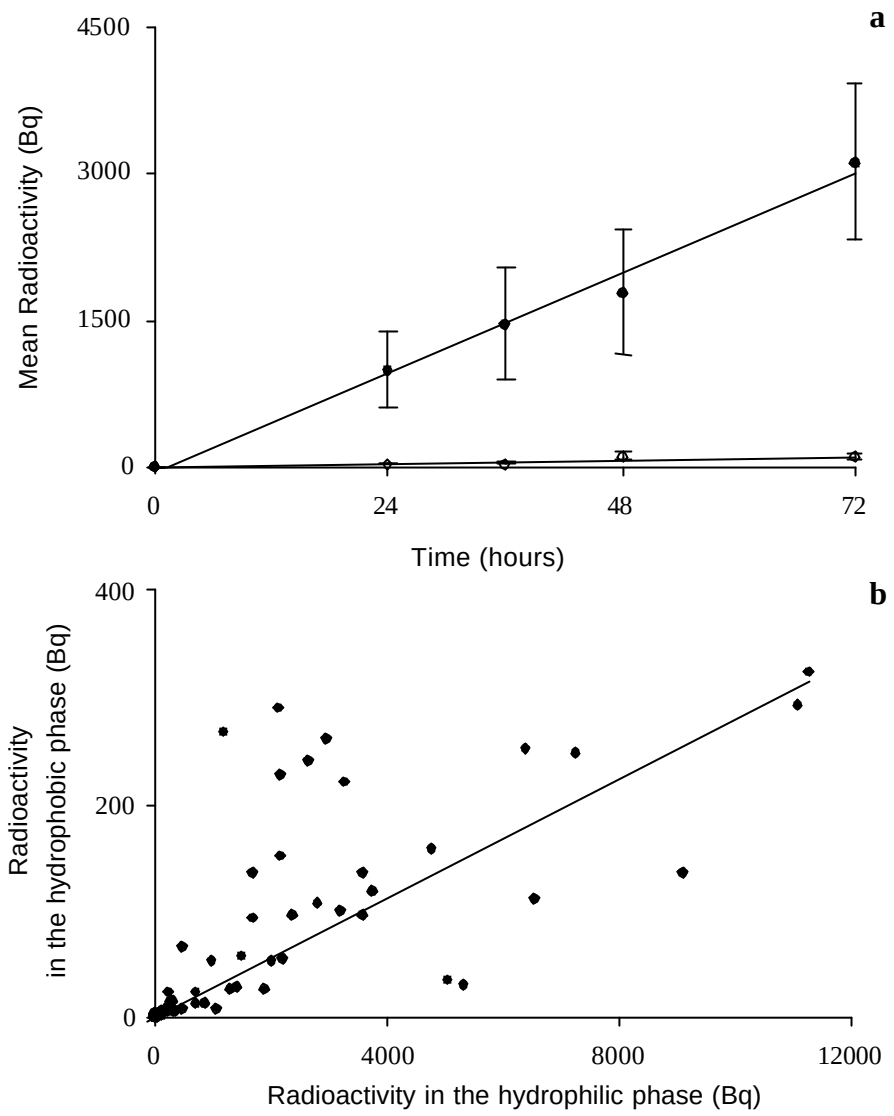


Figure 4. (a) Mean radioactivity measured in the hydrophobic (empty dots) and hydrophilic phases (full dots) at different time intervals. Solid lines represent linear regression of radioactivity against time. **(b)** Linear regression of radioactivity measured in the hydrophobic phase against radioactivity measured in the hydrophilic phase.

Discussion

E. vuilletti females emerged with relatively high reserves of body sugars and glycogen. The initial level of sugars (teneral reserves) of unfed females did not decrease after emergence. On the contrary, their level of body sugars increased weakly during the first 76 hours following the emergence, in spite of the absence of a nutritional supply. This pattern is associated with a concomitant decrease in glycogen reserves. In conclusion, females in the absence of food seem to supply their metabolic needs by glycogen. Feeding on glucose, on

the other hand, increased the level of body sugars. Moreover, glycogen synthesis and levelling off of sugars occurred simultaneously, about 36 hours after emergence.

Concentration of haemolymph sugars is assumed to control the mobilization and the storage of glycogen (Ziegler & Schultz 1986). Indeed, glycogen is known to be stored only when sugar concentration in haemolymph reaches a certain threshold. On the contrary, glycogen reserves are mobilized when the sugars concentration of the haemolymph has declined below a certain value (Van der Horst *et al.* 1980; Ziegler & Schultz 1986; Rivero & Casas 1999a). The increase of body sugars observed in unfed females is in accordance with such a glycogen regulatory mechanism in *E. vuilletti.* The mobilization of the stored glycogen reserves in unfed females and the consumption of sugars in fed females indicates that carbohydrates are the fuels used by females to sustain their metabolic needs. Using sugars enables females to maintain their lipids reserves at a constant level.

The observed pattern of energy acquisition and use is typical of most insect species: under negative energetic balance, insects utilize their energetic reserves (glycogen and/or triglycerides), while under positive energetic balance, they maintain or accumulate their reserves levels (Downer 1981). Insects feeding on sugar usually synthesize glycogen during the first hours but quickly switch to lipid synthesis and eventually accumulate much more lipid than glycogen (Van Handel 1965, 1984; Ziegler 1997). In contrast, in *E. vuilletti* the lipid content of sugar-fed females is not increased significantly. Indeed, the level of lipids never exceeded the teneral level and remained constant even when females consumed glucose for a long time. Two explanations can be put forward. First, the level of lipids never increased because this species is unable to synthesize lipids from sugars. Alternatively, lipid synthesis from sugars was more or less equivalently compensated by lipid use. The simple measurement of the dynamics of nutrients reserves during the life of the female cannot clearly distinguish between these two explanations. Tracing the fate of radioactive sugar enabled us to determine the extent of lipogenesis.

The presence of radioactivity obtained in the hydrophilic phase containing total sugars indicates that females did consume the radioactively marked glucose solution. The concomitant increase of the amount of radioactivity in the hydrophobic phase containing the total lipids could be interpreted as an ability of the female to synthesize lipids from sugars. However, the amount of radioactivity measured in the hydrophobic phase remained very low and never exceed about 7% of the total radioactivity. The radioactivity measured in the hydrophobic phase may come from sugars residuals attached to lipids under the form of glycolipids. Indeed, a large amount of substances are grouped under the common term of

glycolipids and the number and the nature of sugars attached to lipids can greatly influence their hydrophobic or hydrophilic nature (Kiernan 1990; Valet & Richard 1997). If lipogenesis was occurring, the amount of radioactivity in the hydrophilic phase would tend to level off or decline due to a concomitant increase of radioactivity in the hydrophobic phase. These two processes would lead to a variable ratio of radioactivity in the two phases, in contrast to the linear relation observed. Lipids are basically long-term storage molecules (Rivero & Casas 1999a) and lipogenesis from sugars is a costly pathway. Thus, it is difficult to understand why wasps would synthesize lipids from their ingested sugars and burn them immediately afterwards. Indeed the storage and subsequent mobilization of energy reserves is more costly than direct utilization (Wheeler 1989; J. Casas unpublished work). We therefore conclude that lipogenesis either does not occur or occurs at a very low rate in *E. vuilletti*, thus confirming with trace experiments results previously obtained on other parasitoids with feeding experiments (Ellers 1996; Olson *et al.* 2000; Rivero & West 2002; J. Casas, unpublished work). The amount of lipids is therefore almost totally fixed at time of birth and may constrain females to elaborate their eggs mainly from lipids stored during the larval development. The constant level of lipids in both fed and starved females can be explained by the lack of oviposition opportunities. All the results obtained, or previously obtained, in this species seem to indicate that females adopt an accurate management of their lipid reserves with a fine tuning of lipid allocation in their eggs on one hand and a preferential use of a food carbohydrate source to sustain metabolic needs on the other hand (Giron *et al.*2002; Giron & Casas in press).

All parasitoid species in which lipogenesis was explored –*Asobara tabida*, *Macrocentrus grandii*, *Nasonia vitripennis*, *Venturia canescens*– are unable to synthesize lipids from sugars in meaningful quantities despite the fact that these species cover the entire spectrum of life history traits (Ellers 1996; Olson *et al.* 2000; Rivero & West 2002; J. Casas, unpublished work). These traits extend from endoparasitism to ectoparasitism, from moderate to complete synovigeny, and from absence to presence of host-feeding. This surprising result is worth pursuing in depth, as it may well apply to the Aculatea Hymenoptera as a whole group. Indeed, the extent of lipogenesis in ants or bees is at this stage unknown given the paucity of appropriate empirical data (D. Giron & J. Casas, personal observation; M. Wells and K. Crailsheim, personal communication). Detailed physiological studies are now needed to corroborate or infirm the capacity of lipogenesis in all hymenoptera and to identify ecological and physiological conditions making lipogenesis unlikely in this large group of organisms.

Discussion générale

Au cours de sa vie, un organisme doit prendre un certain nombre de décisions, chacune d'entre elles étant associée à divers coûts et bénéfices. Ces derniers doivent être appréhendés en terme d'impact sur les deux principaux traits d'histoires de vie d'un organisme -survie et fécondité-, et plus généralement sur la '*fitness*' de cet organisme. Analyser les décisions en terme de coûts et bénéfices ne peut être effectué sans tenir compte des contraintes environnementales et physiologiques auxquelles les organismes sont soumis. La modélisation mathématique s'est très rapidement révélée être un des principaux outils d'analyse des décisions prises par les organismes en termes de coûts et bénéfices (Krebs & Kacelnik 1993). Comme nous l'avons vu en introduction, les modèles d'optimisation, et plus particulièrement les modèles dynamiques à variables d'état, constituent le principal outil permettant l'analyse des décisions en tenant compte à la fois de leurs conséquences sur la '*fitness*' ainsi que des différentes contraintes limitant les options dont dispose l'organisme. Le recours à la modélisation fournit comme principal avantage une formalisation mathématique des problèmes, une formulation claire des suppositions sous-jacentes aux hypothèses ainsi que l'obtention de prédictions claires, précises et testables.

La construction de modèles théoriques réalistes nécessite la connaissance de nombreuses informations quant à la physiologie des organismes. Dans un grand nombre de cas, fautes de données expérimentales, les modèles reposent uniquement sur des suppositions. Un des enjeux majeurs liés à l'introduction de réalisme physiologique repose donc sur la nécessité de comprendre les mécanismes physiologiques sous-jacents aux décisions comportementales et aux traits d'histoire de vie. C'est dans cette perspective de physiologie intégrative que les divers résultats obtenus au cours de cette thèse ont été discutés dans les chapitres 1 à 4. Au cours de la discussion générale, nos résultats seront donc discutés dans un cadre différent, celui des modèles dynamiques à variables d'état. Cette approche modélisatrice incorpore en effet explicitement le statut physiologique des organismes et les hypothèses de base de ces modèles ont très largement inspiré les travaux réalisés au cours de cette thèse.
Dans un premier temps, je reviendrai en détails sur le **principe des modèles dynamiques à variables d'état** présenté dans l'introduction générale. Pour cela, je m'inspirerai plus spécifiquement des travaux relatifs au comportement de nourrissage sur l'hôte chez les parasitoïdes. Je m'attacherai à mettre en évidence les deux conséquences majeures liées à l'introduction de paramètres physiologiques dans ces modèles: un gain de réalisme biologique et une augmentation inévitable de la complexité de résolution et d'interprétation.

Dans un second temps, je soulignerai quelques **implications essentielles de ces modèles**, telle que la nécessité continue de comprendre les modifications physiologiques résultantes de chaque prise de décision. J'exposerai également les **principaux apports de nos résultats** dans cette compréhension.

Finalement, dans un troisième temps, je m'attacherai à mettre en évidence la nécessité de combiner expérimentation et modélisation et j'exposerai quelques **pistes à poursuivre** tant d'un point de vue empirique que théorique.

Les modèles dynamiques à variables d'état: une perspective plus réaliste

Principes de base

Parmi les principaux pas essentiels dans l'élaboration d'un modèle dynamique à variables d'état on compte, (i) la définition des variables d'état et des contraintes et (ii) la définition des variables de décisions (Clark & Mangel 2000). Le choix des variables d'état varie drastiquement selon le problème posé et l'organisme auquel il se réfère. Les variables d'état servent à représenter l'état physiologique d'un organisme (réserves en nutriments, masse corporelle, charge en œufs, etc.). Des paramètres environnementaux (e.g., température, densité de proies, densité d'hôtes, etc.) peuvent également être posés comme variables. A chaque instant, la valeur de ces variables d'état influence le comportement de l'organisme qui à son tour affecte une ou plusieurs variables d'état. Généralement, des contraintes (ou limites) conditionnent directement les valeurs que peuvent prendre les variables. Ainsi, un animal ne peut manger plus d'une certaine quantité de nourriture ou ne peut grandir au-delà d'une certaine taille. Le terme de variables de décision sert à définir les différentes possibilités "comportementales" dont dispose l'organisme. Elles sont généralement directement définies par la nature du problème que l'on se pose: la décision d'un oiseau de rester au nid, de partir à la recherche de nourriture ou de partenaire sexuel, la décision d'un poisson d'attaquer une proie ou de l'ignorer, ou bien encore le nombre d'œufs à pondre par hôte chez les guêpes parasitoïdes grégaires (Mangel 1987; Hart & Gill 1992; Kelly & Kennedy 1993).

Une fois ces différentes variables définies on peut alors représenter tout organisme par différents états -caractérisés par les valeurs prises par ces variables d'état-, le passage d'un état

à un autre -les transitions- étant déterminé par les différentes décisions prises par l'organisme ainsi que par les processus physiologiques impliqués. Cette vision est qualifiée d'espace d'état, le but des modèles dynamiques à variables d'état étant de définir le déplacement d'un organisme dans cet espace de manière optimale, i.e. maximisant sa '*fitness*'.

Au cours de ces dernières années, les modèles dynamiques à variables d'état sont apparus comme un outil très puissant en écologie évolutive. Cette démarche permet en effet, de créer un lien étroit entre les deux branches majeures de l'écologie évolutive, la théorie des traits d'histoires de vie et l'écologie comportementale (Clark 1993; Krebs & Davies 1993; Clark & Mangel 2000). Cette méthode permet en outre l'incorporation de l'état physiologique des organismes par le biais de variables d'état. Elle suppose de plus une maximisation du succès reproducteur global (*'expected lifetime reproductive success'*) des organismes, paramètre très proche de la notion Darwinienne de *'fitness*' phénotypique utilisée dans la théorie des traits d'histoires de vie (Mangel & Clark 1986, 1988; Clark 1993; Clark & Mangel 2000). La modélisation dynamique à variables d'état peut donc être envisagée comme une généralisation de la théorie des traits d'histoires de vie traditionnelle incorporant la notion de contraintes et de compromis (Clark & Mangel 2000).

Le comportement de nourrissage sur l'hôte chez les parasitoïdes

Les modèles dynamiques à variables d'état ont été très largement utilisés dans l'analyse des comportements et des traits d'histoire de vie (e.g. Stephens & Krebs 1986; Houston *et al.* 1988; Mangel & Clark 1988; Clark 1993; McNamara & Houston 1996). En écologie comportementale, ils permettent par exemple, de faire des prédictions détaillées sur les décisions comportementales de nombreux organismes depuis les stratégies d'approvisionnement pour l'hiver chez les saumons, jusqu'aux stratégies de gestion des fuels métaboliques chez les oiseaux migrateurs en passant par le comportement de ponte chez les insectes parasitoïdes (Clark 1993; Clark & Mangel 2000). Plus spécifiquement, chez les insectes parasitoïdes, la programmation dynamique a été très largement appliquée au comportement de ponte *versus* nourrissage sur l'hôte (e.g. Chan 1991; Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994).

Chez les hyménoptères parasitoïdes, le succès reproducteur est limité par deux contraintes majeures: le risque d'être limité en œufs ('*egg-limited*') ou d'être limité en temps ('*time-limited*'). Une femelle est limitée en œufs si elle épuise son stock total d'œufs bien qu'il existe encore des opportunités de ponte (hôtes encore disponibles). La limitation en temps

s'applique aux individus incapables de trouver assez d'opportunités de ponte durant leur vie pour déposer tous les œufs dont ils disposent. De façon à maximiser leur succès reproducteur, les individus doivent donc tenter de contrebalancer le risque d'être limité en œufs ou en temps (Price 1973; Charnov & Skinner 1984; Parker & Courtney 1984; Waage 1986; Godfray 1987; Mangel 1987; Driessen & Hemerik 1992; Minkenberg *et al.* 1992; Collier *et al* 1994; Godfray 1994; Mangel *et al.* 1994; Heimpel & Rosenheim 1995; Getz & Mills 1996; Heimpel *et al.* 1996; Rosenheim 1996; Shea *et al.* 1996; Ellers & Van Alphen 1997; McGregor 1997; Casas *et al.* 2000). Chez certaines espèces d'insectes parasitoïdes, les femelles peuvent équilibrer les risques grâce à une certaine plasticité comportementale telle que par exemple l'utilisation de l'hôte pour la ponte ou pour le nourrissage sur l'hôte (Mangel 1987, 1989; Godfray 1994; Mangel & Heimpel 1998). En réalisant un nourrissage sur l'hôte, un parasitoïde sacrifie une opportunité de ponte ou réduit les ressources disponibles pour le développement de la larve de parasitoïde. En effet, chez certaines espèces un hôte ne peut servir à la fois à la ponte et au nourrissage sur l'hôte -nourrissage sur l'hôte non concurrent-, alors que chez d'autres il peut être utilisé pour les deux fonctions -nourrissage sur l'hôte concurrent (Jervis & Kidd 1986). En revanche, même s'il entraîne une réduction du gain de '*fitness*' immédiat, le nourrissage sur l'hôte augmente les gains potentiels de '*fitness*' futurs en augmentant le nombre d'œufs produits et/ou la longévité des femelles. Le choix comportemental entre ponte et nourrissage sur l'hôte constitue donc un exemple classique du compromis évolutif entre reproduction immédiate et reproduction future (e.g. Stearns 1976, 1992; Pianka 1970).

Le choix comportemental entre ponte et nourrissage sur l'hôte peut varier en réponse à de nombreux facteurs écologiques -e.g. probabilité de rencontre des hôtes, risque de mortalité du parasitoïde- mais également en fonction de facteurs physiologiques (Godfray 1984). Grâce aux travaux pionniers de Iwasa *et al.* (1984), le nombre d'œufs disponibles pour la ponte dans les ovarioles de la femelle -la charge en œufs- apparaît aujourd'hui très clairement comme un des éléments déterminants pour de nombreux aspects de l'écologie des parasitoïdes (Collins & Dixon 1986; Courtney *et al.* 1989; Trudeau & Gordon 1989; Drost & Cardé 1992; Minkenberg *et al.* 1992; Rosenheim & Rosen 1992; Godfray 1994; Rivero 1994; Collier 1995a; Heimpel & Rosenheim 1995; Michaud & Mackauer 1995; McGregor 1997). Les divers modèles dynamiques à variables d'état développés pour tester l'influence de la charge en œuf sur la décision de nourrissage sur l'hôte (nourrissage sur l'hôte *versus* ponte) arrivent à la prédiction commune que le nourrissage sur l'hôte est privilégié à mesure que la charge en œufs diminue (Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994; Briggs *et al.* 1995; Shea *et al.* 1996). Rosenheim & Rosen (1992) font exception à cette règle en ne mettant en évidence

aucune relation entre la charge en œufs et la décision de nourrissage sur l'hôte. Dans certains modèles, on observe également l'incorporation d'un second facteur physiologique interne à la femelle, les réserves énergétiques (Chan & Godfray 1993; Briggs *et al.* 1995; Collier 1995a; révision par Heimpel & Collier 1996; Shea *et al.* 1996).

Réalisme physiologique et complexité

Pour comprendre la notion d'espace d'état et les problèmes de complexification de l'espace d'état liés à l'introduction de réalisme physiologique, je me suis inspiré de quelques travaux clés pris dans la littérature en relation avec le compromis évolutif entre décision de nourrissage sur l'hôte et décision de ponte chez les parasitoïdes synovigéniques. Pour cela j'ai établi deux schémas de décisions comportementales en m'inspirant principalement des travaux de Collier *et al.* (1994) et de Shea *et al.* (1996). Les schémas qui suivent se veulent volontairement simplificateurs et ne visent pas à décrire en détails les différents modèles développés ni leurs conséquences. Cette démarche ne se veut pas non plus totalement exhaustive, le nombre de travaux traitant de l'influence de la charge en œufs sur la décision de nourrissage sur l'hôte étant considérable. Elle vise simplement à mettre en évidence la notion d'espace d'état.

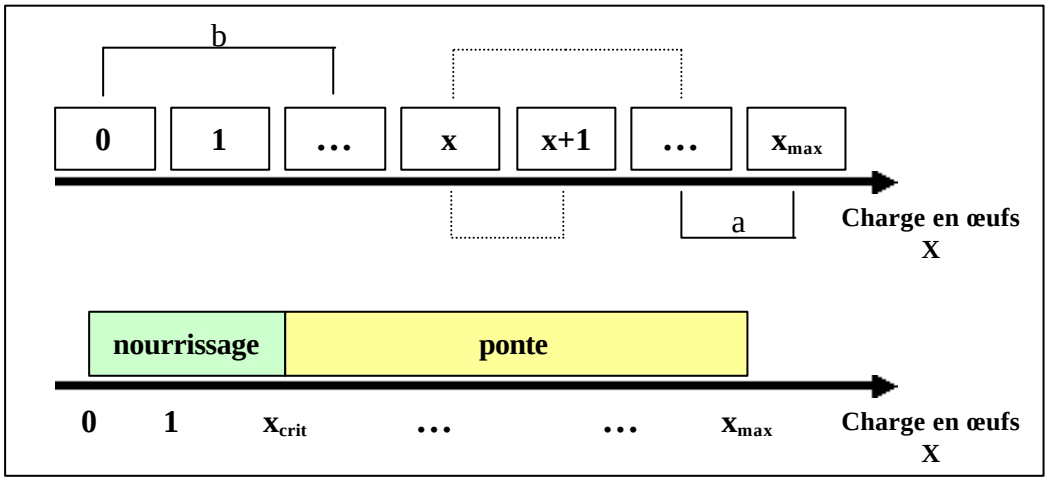


Figure 1. (inspiré de Collier *et al.* 1994). *Espace d'état (en haut).* Les femelles parasitoïdes sont caractérisées par leur charge en œufs, X (variable d'état). La charge en œufs ne peut excéder une valeur seuil, x_{max} correspondant à la capacité maximum de stockage en œufs. La charge en œufs peut descendre jusqu'à zéro mais le parasitoïde se trouve alors limité en œufs. Chaque individu peut soit pondre, soit se nourrir sur l'hôte (variables de décisions). Chaque décision affecte et est affectée par la valeur de X au moment considéré. Situation (a):La femelle ponds. A chaque décision de ponte, la charge en œufs diminue de 1 passant de x à x-1. Situation (b):La femelle renonce à pondre et se nourrit sur l'hôte. A chaque décision de nourrissage sur l'hôte la charge en œufs augmente. Cette augmentation dépend du nombre d'œufs produits par événement de nourrissage sur l'hôte, i.e. le gain du nourrissage sur l'hôte. *Diagramme de décision optimale (en bas).*Un modèle dynamique à variable d'état vise à déterminer la stratégie optimale permettant à l'organisme de maximiser sa 'fitness'. Il visera donc à déterminer la décision prise par l'organisme en fonction de son statut physiologique (valeur de X) et des paramètres écologiques inclut dans le modèle. Il permettra ainsi la définition d'une valeur seuil, x_{crit} en dessous de laquelle la femelle se nourrira sur l'hôte et au-dessus de laquelle la femelle pondra un œuf.

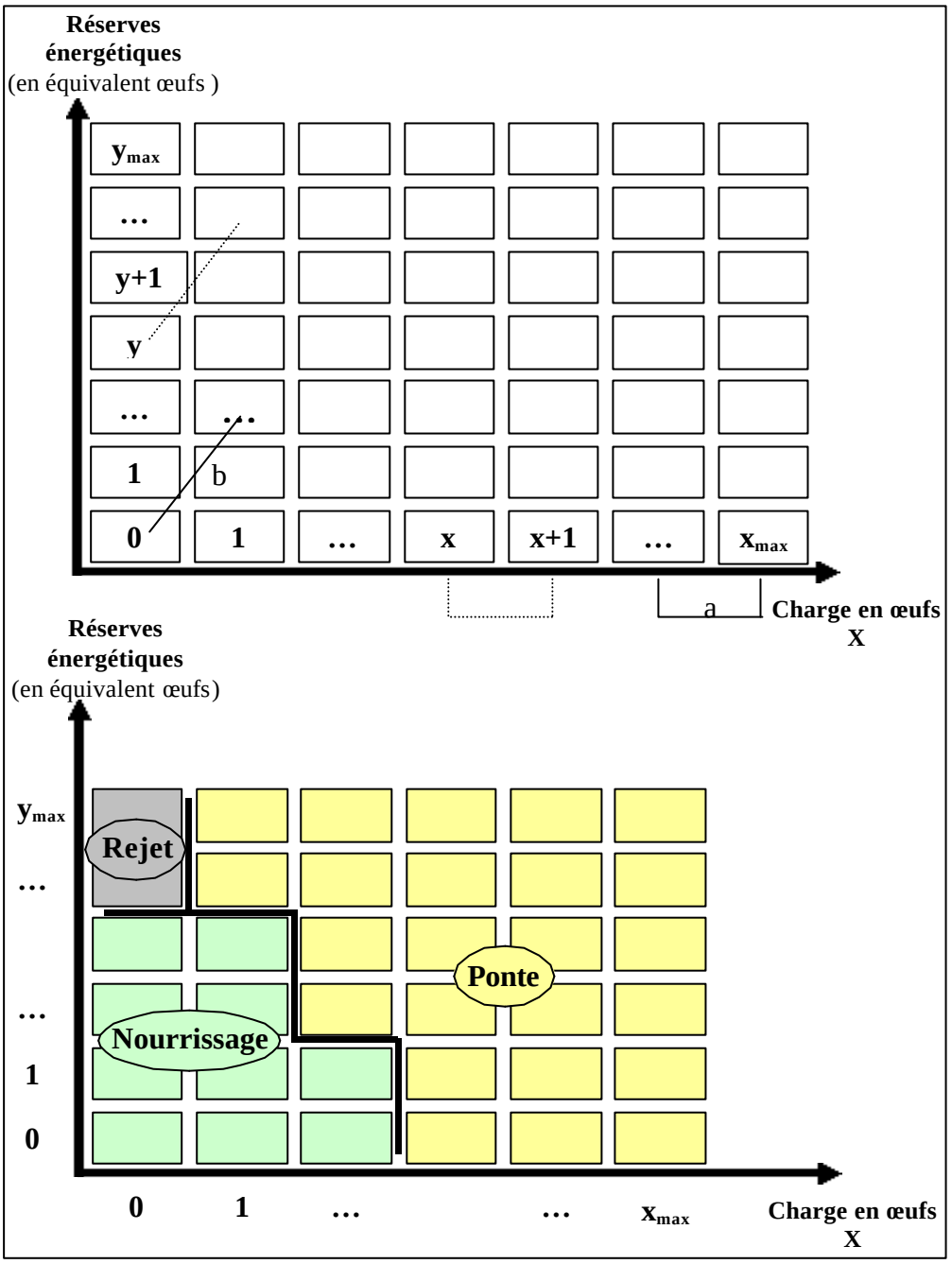


Figure 2. (inspiré de Shea *et al.* 1995). *Espace d'état (en haut).* Les femelles parasitoïdes sont caractérisées par leur charge en œufs, X, et le niveau de leurs réserves énergétiques, Y (variables d'état). Ces deux paramètres ne peuvent excéder une valeur seuil, x_{max} et y_{max} correspondant à la capacité maximum de stockage en œufs et en réserves énergétiques. La charge en œufs peut descendre jusqu'à zéro -le parasitoïde se trouve alors limité en œufs- mais la parasitoïde meurt si ses réserves énergétiques descendent en dessous d'une valeur critique y_{min}. Chaque individu peut pondre, se nourrir sur l'hôte ou rejeter l'hôte (variables de décisions). Chaque décision affecte et est affectée par les valeurs de X et de Y au moment considéré. Situation (a):La femelle ponds. A chaque décision de ponte, la charge en œufs diminue de 1 passant de x à x-1. Situation (b):La femelle renonce à pondre et se nourrit sur l'hôte. A chaque décision de nourrissage sur l'hôte, le niveau des réserves énergétiques ainsi que la charge en œufs augmentent. *Diagramme de décision optimal (en bas).* Un modèle dynamique à variable d'état vise à déterminer la stratégie optimale permettant à l'organisme de maximiser sa 'fitness'. Il visera donc à déterminer la décision prise par l'organisme en fonction de son statut physiologique (valeur de X et de Y) et des paramètres écologiques inclus dans le modèle. Il permettra ainsi la définition de couples de valeurs seuils, (x_{crit} , y_{crit}) en dessous desquels la femelle se nourrira sur l'hôte et au-dessus desquels la femelle pondra un œuf.

Sur la base d'un modèle dynamique simple n'incorporant qu'une variable d'état, ici la charge en œufs, il est possible d'établir un nouveau modèle incorporant un degré de réalisme supplémentaire (figure 1 *versus* figure 2). En effet, une des suppositions de base du schéma 1 consiste en une capacité illimitée des femelles à se nourrir. Cependant, si l'on se place dans des conditions physiologiques plus réalistes, il apparaît vraisemblable que les femelles soient limitées dans leur capacité à se nourrir par des contraintes physiologiques ou mécaniques (volume du tube digestif, capacités digestives, niveau des réserves énergétiques etc.), voire par des contraintes adaptatives, s'alimenter et stocker des nutriments ayant un certain coût (e.g. risque de prédation, coûts de déplacement, etc.). En effet, tout comme une femelle ne peut pondre d'œufs si elle n'en possède pas, une femelle ne peut manger si son appareil digestif est saturé ou si ses capacités de stockage des réserves énergétiques ont atteint leur maximum. L'introduction d'une nouvelle contrainte (via la capacité maximum d'alimentation) permet de mieux tenir compte d'une réalité biologique, l'incapacité à se nourrir indéfiniment. On introduit donc dans le modèle un degré de réalisme supplémentaire. Une telle démarche nécessite cependant l'utilisation d'une nouvelle variable d'état: la capacité de stockage des réserves énergétiques (Y). Cette nouvelle variable vise simplement à introduire un aspect quantitatif lié à l'alimentation. Elle est ainsi indifféremment qualifiée de "capacité de stockage du tube digestif", "contenu du tube digestif", "réserves énergétiques", ou bien encore "contenu en nutriments" (Collier 1995a; Heimpel & Collier 1996; Shea *et al.* 1996).

L'introduction d'une nouvelle contrainte dans le système conduit donc à envisager chaque organisme selon non pas une, mais deux variables: la charge en œufs X et le niveau de stockage des réserves énergétiques Y. La variable X est comprise entre deux limites, zéro et x_{max}, la charge en œufs maximum. La variable Y est comprise entre deux limites, zéro et y_{max}, la capacité de stockage maximum. Les individus précédemment schématisés selon un axe linéaire se trouvent alors projetés dans un espace d'état en deux dimensions. Le déplacement selon l'axe X est conditionné par la décision de ponte. Le déplacement selon l'axe Y est conditionné quant à lui par la décision de nourrissage sur l'hôte. L'introduction de cette nouvelle variable d'état entraîne une augmentation du nombre d'états physiologiques potentiels pouvant être atteints par l'organisme.

Les transitions permettent le passage d'un état à un autre et reflètent les mécanismes physiologiques sous-jacents aux décisions comportementales. L'introduction d'une nouvelle contrainte (et donc d'une nouvelle variable) conduit à reconsidérer les mécanismes supposés jusqu'alors, voir à définir de nouveaux processus permettant à l'organisme d'atteindre les états nouvellement établis. On introduit alors un degré de précision physiologique supplémentaire

également au niveau des mécanismes mis en jeu dans le processus de maturation des ovocytes, précision qui nécessite généralement la formulation de nouvelles hypothèses: les nutriments sont-ils convertis directement sous forme d'œufs ou existe-t-il une phase de stockage intermédiaire? Le gain du nourrissage sur l'hôte est-il constant ou la fraction allouée à la reproduction et au stockage de réserves fluctue-t-elle au cours du temps?

Il en résulte, par l'introduction d'une nouvelle contrainte, une complexification de l'espace d'état aussi bien au niveau du nombre de variables d'état qu'au niveau des transitions. En contrepartie, un degré de réalisme physiologique supplémentaire est atteint en tenant compte de contraintes auxquelles l'organisme peut être soumis et en introduisant parfois de nouvelles options comportementales -la possibilité de rejeter l'hôte lorsque la charge en œufs est nulle et la capacité de stockage en nutriments proche de la saturation dans le cas présent.

Divers exemples de modèles dynamiques à variables d'état confirment fortement le besoin d'intégration des mécanismes physiologiques et de la dynamique des processus afin de développer des modèles plus réalistes (Clark & Mangel 2000). En comparant les prédictions d'un modèle dynamique à variables d'état à celles d'un modèle d'optimisation classique, Houston & McNamara (1985) mettent en évidence que le choix de proies optimal dépend non seulement du taux de rencontre des différentes proies (petites et grosses) mais également du niveau des réserves énergétiques du prédateur (Krebs & Kacelnik 1993). Ils démontrent ainsi le degré de réalisme supérieur des modèles dynamiques à variables d'état incluant ce dernier paramètre. De la même manière la comparaison du modèle statique de Charnov & Stephens (1988) et du modèle dynamique de Mangel (1989), deux modèles traitant du choix de l'hôte chez les parasitoïdes, met en évidence une meilleure précision dans les prédictions du modèle dynamique à variables d'état de Mangel (Godfray 1994). Ce dernier incorpore en effet la charge en œufs, paramètre déterminant dans les décisions comportementales liées à la ponte chez les parasitoïdes (Iwasa *et al.* 1984). Enfin, Mangel & Clark (1988) montrent une prédominance des modèles dynamiques à variables d'état face aux modèles d'optimisation "classique" ('*simple rate-maximizing analysis*', e.g. théorème de la valeur marginale) dans les décisions de ponte chez les hyménoptères parasitoïdes. Il apparaît donc que les modèles dynamiques à variables d'état intègrent un degré de réalisme et une précision des prédictions supérieurs aux modèles d'optimisation classiques (exception faite pour Rosenheim 1999). En effet, en incorporant le temps, l'état physiologique des organismes et en déterminant une interdépendance entre état physiologique et décision, ces modèles incorporent mieux la complexité des comportements et leurs conséquences. En tenant compte de paramètres

biologiques détaillés, la programmation dynamique à variables d'état permet également la construction de modèles dont la structure et les paramètres sont parfaitement adaptée à l'espèce considérée et à la question posée. Ils permettent de plus l'obtention de prédictions qualitatives mais également quantitatives, testables empiriquement.

L'obtention d'un réalisme supérieur dû à la prise en considération des notions de conditions physiologiques et de dynamique des processus entraînent cependant une complexification des modèles générant parfois des difficultés de résolution et d'interprétation des résultats (Clark & Mangel 2000). Ainsi l'augmentation de réalisme physiologique (e.g. schéma 1 *versus* schéma 2) conduit inévitablement à une augmentation du nombre de variables et une croissance exponentielle de la complexité de résolution des modèles (Clark & Mangel 2000). Afin d'obtenir des modèles respectant les capacités de résolution informatique et d'interprétation, il convient donc d'établir un compromis entre réalisme physiologique et complexité.

Implications des modèles et apports des résultats obtenus

Les modèles dynamiques à variables d'état décrits précédemment nécessitent la mise en évidence de l'influence de chaque décision sur l'état physiologique des organismes. Pour cela il convient (i) d'identifier les variables physiologiques affectées puis (ii) de quantifier cet impact.

Identification des flux nutritionnels

Pour comprendre les transitions d'un état physiologique à un autre, il convient en tout premier lieu de déterminer quelles seront les variables d'état influencées par chaque variable de décision. Cette étape nécessite donc la compréhension des flux nutritionnels au sein de l'organisme. Un exemple de ce phénomène peut être dégagé une fois encore des travaux concernant le choix comportemental entre nourrissage sur l'hôte et ponte chez les Hyménoptères parasitoïdes. En effet, l'incorporation de la charge en œufs dans les modèles théoriques -modèles visant à prédire les conditions physiologiques et environnementales optimales sous lesquelles une femelle devrait renoncer à une opportunité de ponte immédiate au profit d'un nourrissage sur l'hôte- a très rapidement généré de nouvelles questions

concernant les patrons d'acquisition et d'allocation des nutriments (Jervis & Kidd 1986; Mangel 1989; Chan 1991; Kidd & Jervis 1991a; Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994; Collier 1995a; Heimpel *et al.* 1998). Faute de données expérimentales *claires* et *appropriées*, trois grands types de modèles ont vu le jour. Pour certains d'entre eux, les nutriments du nourrissage sur l'hôte servent exclusivement à la production des œufs (Jervis & Kidd 1986; Chan & Godfray 1993; Collier *et al.* 1994, Heimpel *et al.* 1994). Pour d'autres, ils sont utilisés exclusivement pour la maintenance (Houston *et al.* 1992; Chan & Godfray 1993), alors que pour d'autres enfin ils servent aux deux fonctions (Chan & Godfray 1993; Collier 1995a; Heimpel *et al.* 1998). De telles suppositions sur la fonction des nutriments acquis au cours du nourrissage sur l'hôte influencent très fortement les variables physiologiques affectées lors d'une prise de décision et donc les prédictions de ces modèles (e.g. Chan & Godfray 1993). Ainsi, dans l'hypothèse d'une conversion immédiate des nutriments sous forme d'œufs, les modèles considérant un gain du nourrissage sur l'hôte uniquement en terme de production d'œufs, prédisent l'existence d'une charge en œufs critique de zéro. La charge en œufs critique correspond à la charge en œufs en dessous de laquelle un parasitoïde préférera se nourrir sur l'hôte plutôt que de pondre. Dans les modèles considérant cette fois que le nourrissage sur l'hôte permet uniquement d'assurer la maintenance des organismes, on observe une modification de la variable clé influençant les comportements, la variable alors considérée étant le niveau d'énergie critique en dessous duquel l'organisme préférera se nourrir sur l'hôte afin d'assurer sa survie. Dans les modèles considérant cette fois un gain en terme de production d'œufs et de maintenance, chaque décision comportementale affecte aussi bien la charge en œufs que le niveau des réserves énergétiques. Les décisions comportementales prises résultent de la combinaison de ces deux facteurs. On observe ainsi la possibilité d'effectuer un nourrissage sur l'hôte à partir d'une charge en œufs critique supérieure à zéro contrairement aux premiers modèles utilisant uniquement un gain reproductif. Une partie des nutriments acquis étant utilisée pour la maintenance de l'organisme, il convient donc de réaliser plus de nourrissage sur l'hôte pour pouvoir former un nouvel œuf. Ceci se traduit par un "déclenchement" du comportement de nourrissage sur l'hôte à partir d'une charge en œufs supérieure à zéro permettant ainsi d'éviter le risque d'être limité en œufs.

Une grande partie de ce travail de thèse s'est concentré sur l'identification de la nature et de la fonction des nutriments acquis au cours du nourrissage sur l'hôte. L'adaptation de techniques colorimétriques développées chez les moustiques (Van Handel 1985a, 1985b; Van

Handel & Day 1988) nous a permis de préciser la nature des nutriments acquis au cours du nourrissage sur l'hôte et de préciser leur impact en terme de survie (**Chapitre 1**). L'utilisation de techniques d'analyses plus élaborées -marquage isotopique- nous a également permis de mesurer l'impact du nourrissage sur l'hôte sur la production d'œufs (Rivero & Casas 1999b; **Chapitre 2**). Nous avons ainsi confirmé que les parasitoïdes synovigéniques consomment l'hémolymphe de leur hôte lors du nourrissage sur l'hôte, leur assurant un apport essentiellement en protéines et en sucres. Les lipides semblent quant à eux être acquis essentiellement au cours de développement larvaire (**Chapitres 1, 3 et 4**) obligeant la femelle à une gestion particulière de cette catégorie de nutriments (**Chapitres 2, 3 et 4**). Les résultats obtenus mettent clairement en évidence que le nourrissage sur l'hôte permet aux parasitoïdes d'assurer les dépenses métaboliques liées aux fonctions de reproduction ainsi que celles liées à la maintenance de l'organisme (**Chapitres 1 et 2**; voir figure 3). De telles informations permettent d'identifier les variables d'état susceptibles d'être influencées par les décisions comportementales. Ainsi, le nourrissages sur l'hôte agit non seulement sur la charge en œufs en assurant la maturation de nouveaux œufs mais également sur les réserves énergétiques dont dispose l'organisme pour couvrir ses besoins métaboliques. Ces résultats aboutissent en outre une validation des modèles considérant un gain du nourrissage sur l'hôte au niveau de la reproduction et de la survie.

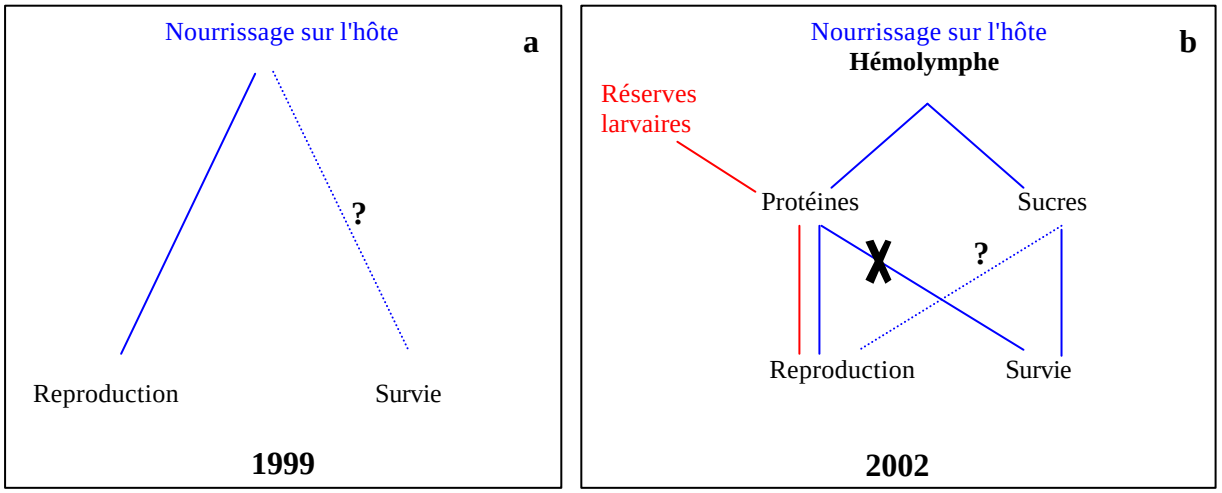


Figure 3. Evolution de notre compréhension des gains obtenus lors du nourrissage sur l'hôte. (a) Les travaux antérieurs ont permis de mettre en évidence un impact positif du nourrissage sur l'hôte sur la reproduction de nombreux parasitoïdes synovigéniques. Le rôle du nourrissage sur l'hôte sur la survie semble quant à lui très variable d'une espèce à l'autre. **(b)** Les résultats obtenus confirment l'hypothèse selon laquelle le nourrissage sur l'hôte correspond à une consommation d'hémolymphe. Il mettent également clairement en évidence un rôle *direct* du nourrissage sur l'hôte sur la production de nouveaux œufs via l'acquisition de protéines. Les ressources protéiques ainsi obtenues viennent compléter celles stockées au cours du développement larvaire et intervenant également sur la reproduction. Les résultats montrent finalement un impact positif du nourrissage sur l'hôte sur la survie des parasitoïdes essentiellement grâce aux sucres obtenus. Le rôle, direct ou indirect, des sucres dans la reproduction reste quant à lui toujours à déterminer.

Quantification des flux nutritionnels

Une fois les variables d'état affectées identifiées, il convient de préciser dans quelles mesures elles seront modifiées par les variables de décision. Afin de mesurer l'effet d'une décision sur les variables d'état, il convient alors de se poser les questions suivantes: (i) l'effet est-il immédiat ou différé? (ii) l'effet est-il ponctuel ou réparti dans le temps? Et enfin (iii) l'effet est-il constant ou variable? La notion de délai ayant été déjà abordée, en particulier par Rivero & Casas (1999b), ce travail de thèse s'est concentré principalement sur les deux dernières questions.

Effet immédiat ou différé? Dès lors que l'on s'intéresse de près aux mécanismes physiologiques sous-jacents aux décisions comportementales, il apparaît que certains d'entre eux peuvent engendrer un délai entre la prise de décision comportementale et une modification des variables d'état. On observe ainsi qu'il existe en réalité un délai entre l'acquisition de nutriments par nourrissage sur l'hôte et la conversion de ces nutriments sous forme d'œufs (e.g. Collier 1995a; Rivero & Casas 1999b). L'effet de ce délai de maturation sur la production d'œufs a été très largement étudié par de nombreuses expériences et l'importance évolutive de ce délai a été exploré via des modèles dynamiques à variables d'état (e.g. Chan 1991; Collier *et al.* 1994; Collier 1995a). Ces études montrent que l'incorporation d'un délai de maturation, si court soit-il, influence très fortement la décision comportementale de nourrissage sur l'hôte *versus* celui de la ponte pour une charge en œufs donnée. En effet, une absence de délai permet de prédire un nourrissage sur l'hôte uniquement à partir du moment ou la charge en œufs est nulle. Au contraire, lorsqu'il existe un délai de maturation, le parasitoïde doit se nourrir sur l'hôte avant d'atteindre une charge en œufs nulle. Ceci permet d'éviter au parasitoïde le risque d'être à cours d'œufs, situation l'obligeant à attendre la maturation de nouveaux œufs et à rejeter potentiellement les hôtes rencontrés (Collier *et al.* 1994; Collier 1995a). Notons que ces modèles considèrent uniquement le lien entre nourrissage sur l'hôte et production d'œufs, l'intervention d'un gain en terme de survie n'étant pas pris en compte. Ceci explique la possibilité d'avoir une charge en œufs critique nulle (voir précédemment l'influence d'un gain de survie sur la charge en œufs critique). D'autres modèles incorporent à la fois le double bénéfice du nourrissage sur l'hôte -survie et fécondité- et l'existence d'un délai de maturation. Shea *et al.* (1996) définissent ainsi des périodes de latence, périodes suivant un nourrissage sur l'hôte et durant lesquelles le parasitoïde, à défaut de pouvoir s'alimenter de nouveau peut pondre. En conclusion, la possibilité d'effet différé

peut modifier fortement les prédictions des modèles et il convient donc de se poser la question de l'existence ou non d'un délai et de l'incorporer, si besoin, dans le modèle.

Effet ponctuel ou réparti dans le temps? Un autre paramètre physiologique a fait l'objet récemment d'une attention particulière: le gain du nourrissage sur l'hôte, i.e. le nombre d'œufs produits grâce à une événement de nourrissage sur l'hôte. Quantifier le gain du nourrissage sur l'hôte et le délai de maturation des œufs est essentiel pour prédire quand un parasitoïde va renoncer à une opportunité de reproduction immédiate (ponte) au profit d'un nourrissage sur l'hôte, nourrissage susceptible d'augmenter ses chances de reproduction futures (Collier 1995b). De récentes études indirectes mettent clairement en évidence que les parasitoïdes bénéficient des nutriments acquis au cours du nourrissage sur l'hôte longtemps après l'événement de nutrition lui même (Collier 1995b; Heimpel *et al.* 1997). Plus récemment, le suivi d'incorporation d'éléments nutritifs dans les œufs en ayant recours à divers marqueurs radioactifs, nous a permis de mettre en évidence ce processus de façon direct et sans ambiguïté (Rivero & Casas 1999b; **Chapitre 2**). En effet, bien que l'incorporation maximale des nutriments acquis au cours d'un nourrissage sur l'hôte se réalise dans un temps court après l'événement de nutrition, une grande proportion des nutriments sont stockés et utilisés *graduellement* pour la production d'œufs tout au long de la vie des femelles. Ceci démontre très clairement que le gain du nourrissage sur l'hôte est une variable continue et non une variable discrète comme supposé dans la majorité des modèles comportementaux (exception faite pour Heimpel *et al.* 1998). Le gain du nourrissage sur l'hôte est réparti tout au long de la vie d'un organisme et ne peut donc pas être mesuré en utilisant simplement le nombre d'œufs produits par unité de temps.

Effet constant ou variable? Un des aspects frappants des modèles dynamiques à variables d'état est la constance des paramètres utilisés, le plus souvent par soucis de simplification et/ou par méconnaissance des processus impliqués. Cependant, des paramètres tels que l'âge de la femelle peuvent parfois très nettement affecter certaines aptitudes physiologiques, conditionnant par exemple une diminution de ses capacités de maturation des œufs et générant une augmentation du délai de maturation au cours du temps, ou bien encore une augmentation des coûts de conversion. L'âge pourrait tout aussi bien influencer la proportion de nutriments, résultant d'un nourrissage sur l'hôte, allouée à la reproduction et à la maintenance. Alors que le caractère dynamique de ces paramètres reste encore à l'heure actuelle inconnu, d'autres paramètres apparaissent quant à eux clairement fluctuants dans le

temps. Ainsi, l'analyse de la composition des œufs et son évolution au cours de la vie d'une femelle, nous a permis de mettre en évidence des variations aussi bien qualitatives que quantitatives (**Chapitre 3**). De plus, chaque événement de nourrissage sur l'hôte se traduit par une quantité de nourriture consommée très variable (gain de poids de 0.0058 à 0.6078 mg, coeff. variation=0,958; voir figure 4) avec une tendance progressive à augmenter la quantité de nourriture consommée par nourrissage sur l'hôte au cours de la vie du parasitoïde (D. Giron & J. Casas, données non publiées). Les capacités des parasitoïdes à utiliser des ressources stockées (ressources larvaires ou ressources provenant de nourrissages sur l'hôte précédents) pour élaborer les œufs, ainsi que les fluctuations de quantité de nourriture consommée par nourrissage sur l'hôte et d'investissement maternel par œuf conduisent à envisager le gain de nourrissage sur l'hôte comme variable et non pas statique. La 'fitness' d'un événement simple de nourrissage sur l'hôte ne peut donc être quantifiable sur le court terme et doit être envisagée en tenant compte de la dynamique des processus physiologiques sur toute la durée de vie d'un organisme.

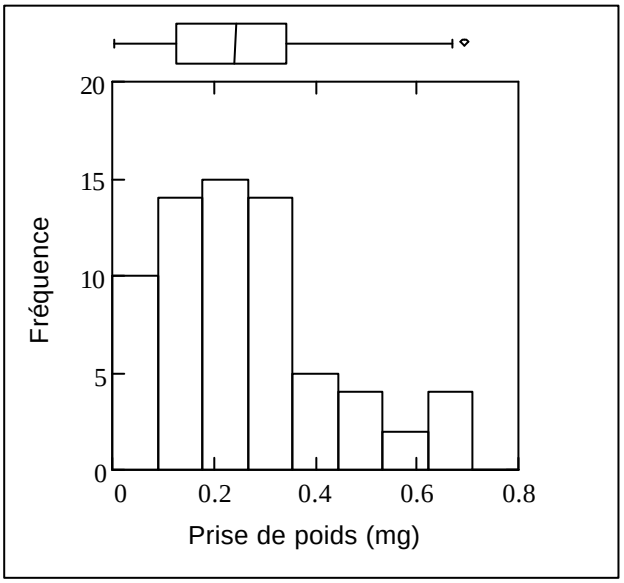


Figure 4. Prise de poids (mg) lors du premier événement de nourrissage sur l'hôte mesuré sur 68 femelles.

Perspectives, les nouveaux enjeux

Des modèles vers les études empiriques

L'intégration de paramètres physiologiques et l'introduction d'une perspective dynamique apparaît aujourd'hui indispensable au développement de modèles physiologiquement "réalistes". Cependant, l'absence de données expérimentales adéquates conduit généralement à l'élaboration de modèles sur la base de processus physiologiques résultant de suppositions. Par souci de clarté, les mécanismes supposés sont généralement simples mais tendent cependant à être toujours plus précis via l'introduction d'un réalisme toujours plus grand. Cette démarche génère inévitablement de nouvelles questions quant aux règles de fonctionnement interne des organismes et nécessite sans cesse de nouvelles investigations empiriques. Outre le simple gain lié à une progression générale de la connaissance, cette nécessité continue d'approfondissement des informations relatives à la physiologie des organismes stimule inévitablement le développement de nouvelles techniques d'analyses. Dans notre cas, l'adaptation de techniques biochimiques simples (analyses colorimétriques, chromatographie en couche mince) ou plus élaborées (double marquage radioactif) s'est révélée particulièrement utile pour l'acquisition de données empiriques concernant les patrons d'acquisition et d'allocation des nutriments (**Chapitres 1 à 4**). Cependant, alors que l'accès aux informations physiologiques est aujourd'hui possible, plusieurs problèmes techniques demeurent, essentiellement dus à la quantité infime de matériel disponible. En effet, malgré une vaste gamme de taille chez les parasitoïdes, bon nombre d'entre eux sont de faible dimension, de l'ordre du millimètre. Face à de telles difficultés, les nouvelles technologies s'avèrent aujourd'hui salvatrices et devraient permettre dans les prochaines années des avancées considérables dans la précision de l'évaluation des paramètres physiologiques et par conséquent dans la compréhension des règles et mécanismes physiologiques agissant au cœur de l'organisme. Dans ce but, diverses approches ont été tentées au cours de ce travail de thèse.

Nous avons proposé deux explications majeures suite aux résultats obtenus concernant l'allocation des ressources adultes et juvéniles dans la reproduction (**Chapitre 2**). La première reposait sur l'existence de nutriments clés pouvant être obtenus par la femelle uniquement au cours de son développement larvaire. La seconde proposait l'existence d'une compartimentation anatomique des réserves stockées en fonction de leur origine larvaire ou

adulte. Afin de tester cette seconde hypothèse, l'expérience a été renouvelée et des coupes histologiques d'individus marqués ont été réalisées. Ces coupes ont ensuite été analysées grâce à une technique auto-radiographique à haute résolution (B-imager) permettant la visualisation de multiples marqueurs radioactifs. Le choix de cette technique a été fait en raison de la possibilité de suivre plusieurs marqueurs, en l'occurrence le H_3 et le C_{14}, simultanément avec un degré de résolution très fin (seuil de détection 0,007 DPM pour le H_3; résolution spatiale 60µm), critères particulièrement importants à la mise en évidence d'une compartimentation potentielle sur des structures telles que le corps gras. Le but recherché était donc la mise en évidence d'une compartimentation régionale et fonctionnelle du corps gras tel que cela avait pu être réalisé chez d'autres insectes (Haunerland & Shirk 1995; Jensen & Borgesen 2000). Cette technique ne s'est cependant pas montrée à la hauteur de nos espérances et les images obtenues n'ont pu être exploitées de manière satisfaisante.

Les techniques d'analyses utilisées au cours de cette thèse ont permis d'atteindre la plupart des buts initialement fixés. Cependant, leur niveau de résolution ne permet pas à l'heure actuelle d'accéder à certaines données telles que, par exemple, la composition biochimique à l'échelle d'un œuf. Ceci génère inévitablement des difficultés statistiques les données étant groupées (analyses sur groupes de 5 œufs, **Chapitre 3**). L'acquisition de données à l'échelle d'un œuf pourrait permettre, entre autres, la construction de budgets énergétiques beaucoup plus précis au niveau individuel. Au cours d'un programme de recherche mené en partenariat entre le professeur J. Casas (IRBI, université de Tours, France) et le professeur D. Tomos (SBS, University of Wales-Bangor, Royaume-Uni), j'ai appris et adapté une technique d'analyse biochimiques à haute résolution utilisée en physiologie végétale et disponible uniquement dans deux laboratoires européens ('*Single Cell Sampling and Analysis*'; Bazzanella *et al.* 1997; Tomos & Leigh 1999; Tomos 2000; Tomos *et al.* 2000; Koroleva *et al.* 2001; Tomos & Sharrock 2001). Cette méthode permet le prélèvement et l'analyse quantitative d'échantillons au niveau cellulaire et sub-cellulaire (analyse possible sur des échantillons de 20 picolitres). Elle permet en outre la mesure simultanée de multiples composants sur un même échantillon (cations, anions, sucres, acides aminés, protéines, etc.) avec un degré de résolution inférieur à 5 mM (soit par exemple, pour le glucose des concentrations de l'ordre de 1µg/µl). Le principe de micro-extraction repose sur l'utilisation d'un micro-capillaire relié à un micro-manipulateur. Le capillaire est préalablement rempli d'huile de silicone afin de prévenir l'évaporation de l'échantillon. Le principe d'analyse quantitative repose sur le principe de l'électrophorèse capillaire ('*capillary electrophoresis*').

L'échantillon prélevé est injecté dans un micro-capillaire (Longueur 97cm; diamètre interne 50µm) baignant dans un tampon adapté aux solutés analysés. L'application d'un champ électrique à très haute tension (30kV) permet la séparation des composés en fonction de leur charge et de leur taille. Leur détection et identification sont effectués par absorbance ou fluorescence. Les résultats obtenus se sont révélés très prometteurs et devraient permettre dans les prochaines années des études physiologiques précises au niveau cellulaire et sub-cellulaire, permettant, par exemple, l'analyse biochimique des différentes cellules du corps gras si une compartimentation fonctionnelle était mise en évidence. De telles connaissances devraient permettre d'accéder à un degré de réalisme physiologique sans précédent, réalisme pouvant être incorporé aux modèles théoriques d'écologie comportementale et évolutive.

Des études empiriques vers les modèles

L'acquisition de nouvelles connaissances physiologiques -notamment par le biais des nouveautés technologiques- peut parfois conduire à une confirmation des suppositions de base des modèles, comme la consommation de l'hémolymphe de l'hôte lors du nourrissage sur l'hôte (**Chapitre 1**), mais peut également remettre plus ou moins en question des hypothèses de base et l'utilisation de certains paramètres. Elle peut ainsi susciter l'ajout de nouveaux paramètres, la modification d'un ou plusieurs paramètres ou le remplacement total d'un paramètre au profit d'un autre, plus approprié et plus représentatif d'une réalité physiologique. Ainsi, les modèles utilisant la notion de réserves énergétiques, au sens large, ne tiennent pas compte de l'existence de nutriments limitants et par conséquent potentiellement prédominants dans l'évolution des stratégies d'histoire de vie et des comportements. Le développement de modèles multidimensionnels incorporant ces nutriments limitants apparaît aujourd'hui essentiel à l'obtention de prédictions réalistes (**Chapitres 3 et 4**). De la même manière, nous avons vu précédemment que l'estimation de la quantité de nourriture consommée par un parasitoïde lors du nourrissage sur l'hôte -via une estimation de la prise de poids par exemple- devrait être préférée au nombre de nourrissages effectués sur l'hôte, paramètre usuellement utilisé. En effet, en raison d'une très forte variabilité dans la quantité de nourriture consommée lors d'un événement de nourrissage sur l'hôte à l'autre, on ne peut considérer d'un point de vue énergétique le nourrissage sur l'hôte comme une entité pertinente (gain de poids de 0.0058 à 0.6078 mg, coeff. variation=0,958; voir figure 4). Le gain du nourrissage sur l'hôte doit quant à lui être reconsidéré en introduisant non seulement l'existence d'un délai de maturation, mais également en tenant compte de son aspect continu et dynamique. L'introduction de cette

dynamique dans les modèles reste à faire et constitue sans aucun doute un des défis de taille pour les futurs modélisateurs.

La remise en cause de certains paramètres peut également conduire à reconsidérer totalement la façon de se poser certaines questions écologiques et évolutives. Les modèles développés pour prédire l'influence de la charge en œufs et du temps sur la décision de nourrissage sur l'hôte constituent un exemple de choix pour illustrer ce phénomène. L'intérêt pour les processus physiologiques de production des œufs a été renforcé par le récent débat cherchant à déterminer si le compromis évolutif entre reproduction immédiate et reproduction future est principalement influencé par le nombre d'œufs disponibles dans les ovarioles de la femelle ou par le temps disponible pour les pondre (Driessen & Hemerik 1992; Getz & Mills 1996; Rosenheim 1996; McGregor 1997; Heimpel & Rosenheim 1998; Heimpel *et al.* 1998; Mangel & Heimpel 1998; Sevenster *et al.* 1998; Rosenheim 1999; Casas *et al.* 2000; Ellers *et al.* 2000; Rosenheim *et al.* 2000). Divers modèles ont confirmé que la limitation en œufs est un résultat possible dans un processus évolutif d'optimisation de l'allocation des ressources - essentiellement en raison de la stochasticité des opportunités reproductives- (Rosenheim 1999; Rosenheim *et al.* 2000). D'autre part, ces modèles prédisent également que la majorité des parasitoïdes devraient mourir avec un stock d'œufs toujours disponible, et diverses études empiriques ont effectivement mis en évidence que la plupart des espèces de parasitoïdes ont mis en place au cours de l'évolution des stratégies d'allocation des ressources visant à réduire les risques d'être limités en œufs (Rosenheim 1999; Ellers *et al.* 2000). Cependant, bien que toutes les études empiriques et théoriques se basent sur le nombre d'œufs matures restant à disposition à la mort des femelles, aucune d'entre elles n'a pris en compte une variation d'investissement reproducteur au cours du temps. Pour *E. vuilletti,* étant donné que l'investissement parental décroît avec l'âge de la femelle, le gain de '*fitness*' associé à chaque œuf pondu dépend de son rang de ponte (**Chapitre 3**). Il convient donc de connaître effectivement la charge en œuf à la mort des femelles, mais également le nombre d'œufs précédemment pondu afin d'estimer la réelle perte de '*fitness*' associée à chaque œuf non pondu. Nos résultats montrent que cette perte diminue avec le temps, à mesure que la femelle vieillit. Ceci est particulièrement vrai pour les derniers œufs pondus dont la valeur en terme de '*fitness*' pour la mère est quasiment négligeable (voir figure 5). Dès lors il convient d'incorporer au discours évolutif les processus physiologiques d'investissement reproducteur sur l'échelle de toute la vie des femelles afin de tenir compte d'une véritable réalité physiologique dans les modèles adaptatifs.

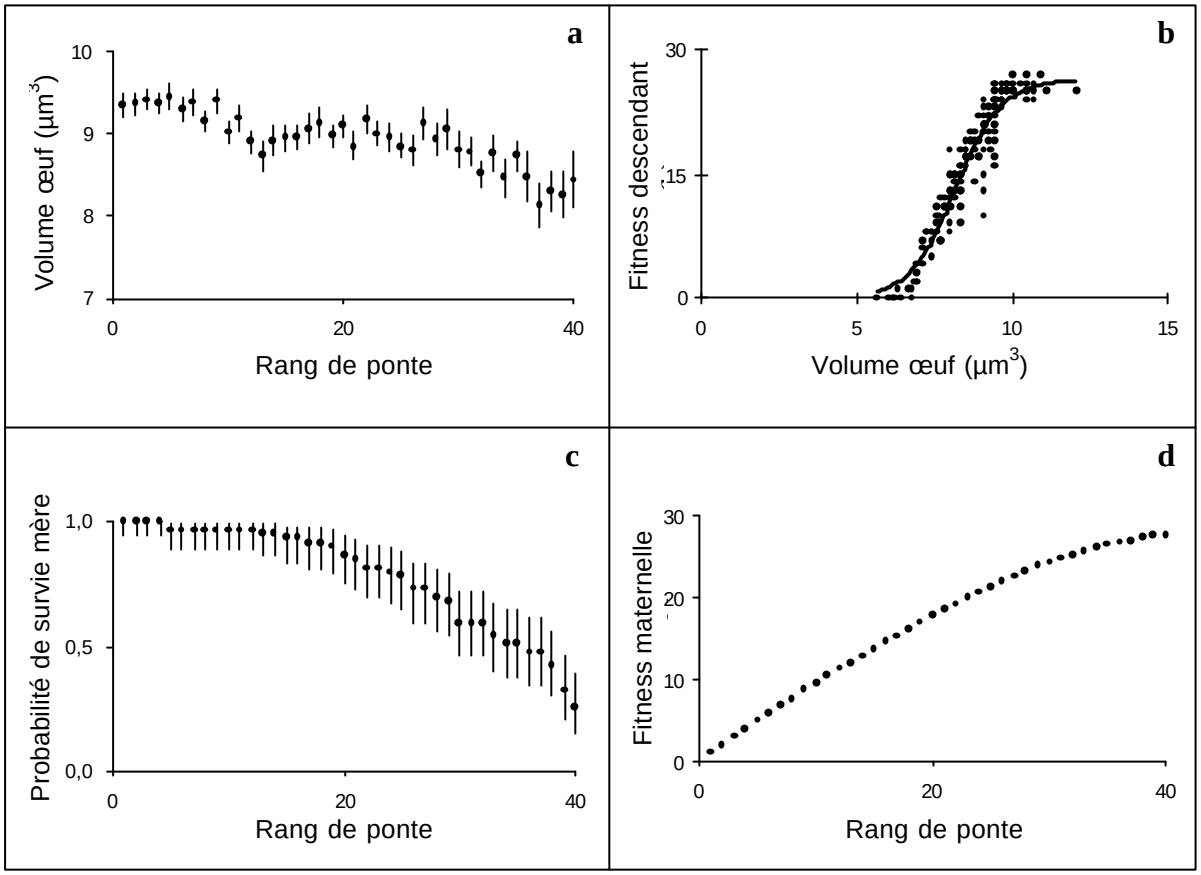


Figure 5. (a) Evolution du volume des œufs pondus (en µm^3) en fonction du rang de ponte (moyenne ± erreur standard). **(b)** Evolution de la 'fitness' des descendants (mesurée via leur durée de survie en heures en absence de nourriture; voir chapitre 3) en fonction du volume des œufs dont ils sont issus (en µm^3). La courbe pleine décrit la fonction de régression d'équation y=26,32/(1+74014,00*EXP(-1*1,37*x)). **(c)** Evolution de la probabilité de survie des femelles en fonction du rang de ponte. **(d)** Evolution de la 'fitness' maternelle cumulée en fonction du rang de ponte calculé grâce à la formule de Begon & Parker (1986) après normalisation des données: wi= Σfi*pi avec, wi fitness maternelle cumulée au rang i, pi probabilité de survie de la mère au rang i (graphe c), et fi fitness des descendants au rang i obtenu grâce à l'application de la courbe de régression obtenue en (b) sur les données présentées en (a). La courbe ainsi obtenue met clairement en évidence une diminution progressive du gain de 'fitness' relatif à chaque œuf. Les derniers œufs pondus ne contribuent que très peu à la 'fitness' globale de la mère.

Conclusions

Les modèles théoriques permettent de déterminer les paramètres physiologiques jouant potentiellement un rôle clé dans les décisions comportementales comme cela a été montré avec la charge en œufs chez les parasitoïdes. En retour, une démarche empirique permet une remise en question plus ou moins profonde des suppositions des modèles ainsi que des paramètres utilisés. Par ce biais on observe ainsi une stimulation potentielle des échanges entre modélisateurs et expérimentateurs. Cet échange continu permet non seulement un

approfondissement des connaissances physiologiques et une stimulation des recherches technologiques, mais également le développement de modèles de plus en plus réalistes ainsi qu'une évolution des concepts écologiques. Malheureusement, cet échange reste bien souvent purement théorique, chacun se cantonnant dans sa voie modélisatrice ou expérimentale. Ceci conduit parfois à d'étranges constats. Bien qu'il soit communément admis que l'introduction de nouveaux paramètres physiologiques dans les modèles dynamiques à variables d'état conduise à un réalisme biologique croissant, il paraît curieux qu'aucune étude sur le nourrissage sur l'hôte, à notre connaissance, ne confronte divers modèles de complexité croissante, i.e. incluant un nombre croissant de variables physiologiques, à des données expérimentales obtenues en laboratoire ou sur le terrain afin de dégager clairement l'apport réel en terme de précision des prédictions. D'un point de vue fondamental, tout paramètre physiologique, de par son existence, tient compte d'une réalité biologique et son intégration conduit inévitablement à une amélioration du réalisme physiologique. Cependant, cela ne se traduit vraisemblablement pas toujours par de meilleures prédictions et une meilleure compréhension du fonctionnement des individus et des populations. Une quantification des gains réels liés à l'introduction de "réalisme physiologique", par confrontation entre expérimentation et modélisation, apparaît aujourd'hui indispensable afin de mettre en évidence un apport significatif en terme de réalisme biologique au sens large. Ceci souligne également le risque majeur de la "surenchère de réalisme". Il apparaît donc important de définir les buts à atteindre au préalable de toute approche modélisatrice ou empirique. Ce sont les objectifs ainsi fixés qui devront déterminer le degré de réalisme physiologique à incorporer au modèle. Il est toujours possible d'intégrer un niveau de détail de plus en plus important, mais entre réalisme physiologique, complexité et prédictabilité, il faut choisir le compromis optimal!

Références bibliographiques

Askew, R.R. & Shaw, M.R. (1986). Parasitoid communities: their size, structure and development. In: Waage, J.K. & Greathead, D. (Eds), *Insect Parasitoids.* Academic Press, London.

Avelar, T. (1993). Egg size in *Drosophila*: standard unit of investment or variable response to environment? The effect of temperature. *Journal of Insect Physiology* **39**, 283-289.

Bazzanella, A., Lochmann, H., Mainka, A. & Bächmann, K. (1997). Determination of inorganic anions, carboxylic acids and amino acids in plant matrices by capillary zone electrophoresis. *Chromatographia* **45**, 59-62.

Begon, M. & Parker, G.A. (1986). Should egg size and clutch size decrease with age? *Oikos* **47**, 293-302.

Bell, G. & Koufopanou, V. (1986). The cost of reproduction. *Oxford Survey of Evolutionary Biology* **3**, 83-131.

Bernardo, J. (1996). The particular maternal effects of propagule size, especially egg size: patterns, models, quality of evidence and interpretations. *American Zoologist* **36**, 216-236.

Blackburn, T.M. (1991a). A comparative examination of life-span and fecundity in parasitoid Hymenoptera. *Journal of Animal Ecology* **60**, 151-164.

Blackburn, T.M. (1991b). Evidence for a 'fast-slow' continuum of life-history traits among parasitoid Hymenoptera. *Functional Ecology* **5**, 65-74.

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). Method of lipid extraction. *Canadian Journal of Biochemical Physiology* **37**, 911-917.

Boggs, C.L. (1981) Nutritional and life-history determinants of resource allocation in holometabolous insects. *American Naturalist* **117**, 692-709.

Boggs, C.L. (1992). Resource allocation: exploring connections between foraging and life history. *Functional Ecology* **6**, 508-518.

Boggs, C.L. (1997a). Dynamics of reproductive allocation from juvenile and adult feeding: radiotracer studies. *Ecology* **78**, 192-202.

Boggs, C.L. (1997b). Reproductive allocation from reserves and income in butterfly species with differing adult diets. *Ecology* **78**, 181-191.

Bounias, M. (1983). *L'Analyse Biochimique Quantitative par Nanochromatographie en Couche Mince.* Masson, Paris.

Bowman, A.W. & Azzalini, A. (1997). *Applied Smoothing Techniques for Data Analysis.* Oxford Science, Oxford.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**, 248-254.

Briggs, C.J., Nisbet, R.M., Murdoch, W.W., Collier, T.R. & Metz, J.A.J. (1995). Dynamical effects of host-feeding in parasitoids. *Journal of Animal Ecology* **64**, 403-416.

Brown, J.J. & Chippendale, G.M. (1974). Migration of the monarch butterfly, *Danaus plexippus*: energy sources. *Journal of Insect Physiology* **20**, 1117-1130.

Canavoso, L.E., Jouni, Z.E., Karnas, K.J., Pennington, J.E. & Wells, M.A. (2001). Fat metabolism in insects. *Annual Review of Nutrition* **21**, 23-46.

Casas, J., Nisbet, R.M., Swarbrick, S. & Murdoch, W.W. (2000). Egg load dynamics and oviposition rate in a wild population of a parasitic wasp. *Journal of Animal Ecology* **69**, 1-11.

Chan, M.S. (1991). *Host-feeding in parasitic wasps: a study of population patterns generated by individual behaviour.* PhD thesis, Imperial College, University of London.

Chan, M.S. & Godfray, H.C.J. (1993). Host-feeding strategies of parasitoid wasps. *Evolutionary Biology* **7**, 593-604.

Chapman, R.F. (1998). *The Insects: Structure and Function*, 4th Edition. Cambridge University Press, Cambridge.

Charlesworth, B. (1980). *Evolution in Age-structured Populations*. Cambridge University Press, Cambridge.

Charnov, E.L. & Berrigan, D. (1991). Evolution of life-history parameters in animals with indeterminate growth, particularly fish. *Evolutionary Ecology* **5**, 63-68.

Charnov, E.L. & Skinner, S.W. (1984). Evolution of host selection and clutch size in parasitoid wasps. *Florida Entomologist* **67**, 5-21.

Charnov, E.L. & Skinner, S.W. (1985). Complementary approaches to the understanding of parasitoid oviposition decisions. *Environmental Entomology* **14**, 383-391.

Charnov, E.L. & Stephens, D.W. (1988). On the evolution of host selection in solitary parasitoids. *American Naturalist* **132**, 707-732.

Chino, H. & Gilbert, L.I. (1965). Studies on the interconversion of carbohydrate and fatty acid in *Hyalophora cecropia*. *Journal of Insect Physiology* **11**, 287-295.

Chippindale, A.K., Leroi, A.M., Kim, S.B. & Rose, M.R. (1993). Phenotypic plasticity and selection in "Drosophila" life-history evolution. Nutrition and the cost of reproduction. *Journal of Evolutionary Biology* **6**, 171-193.

Clark, C.W. (1993). Dynamic models of behavior: an extension of life history theory. *Trends in Ecology and Evolution* **8**, 205-209.

Clark, C.W. & Mangel, M. (2000). *Dynamic State Variable Models in Ecology.* Oxford University Press, Oxford.

Clements, A.N. (1992). *The Biology of Mosquitoes*, Vol. I. Chapman & Hall, London.

Clutton-Brock, T. & Godfray, C. (1993). Parental investment. In: Krebs J.R. & Davies N.B. (Eds), *Behavioural Ecology: an evolutionary approach*, 3rd Edition. Blackwell Scientific Publications, Cambridge.

Cole, L.C. (1954). The population consequences of life history phenomenon. *Quarterly Review of Biology* **29**, 103-37.

Collier, T.R. (1995a). Adding physiological realism to dynamic state variable models of parasitoid host feeding. *Evolutionary Biology* **9**, 217-235.

Collier, T.R. (1995b). Host feeding, egg maturation, resorption and longevity in the parasitoid *'Aphytis melinus'* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Annals of the Entomological Society of America* **88**, 206-214.

Collier, T.R., Murdoch, W.W. & Nisbet, R.M. (1994). Egg load and the decision to host-feed in the parasitoid *'Aphytis melinus'*. *Journal of Animal Ecology* **63**, 299-306.

Collins, M.D. & Dixon, A.F.G. (1986). The effect of egg depletion on the foraging behaviour of an aphid parasitoid. *Journal of Applied Entomology* **102**, 342-352.

Courtney, S.P., Chen, G.K. & Gardner, A. (1989). A general model for individual host selection. *Oikos* **55**, 55-65.

Cuthill, I.C. (1985). *Experimental studies of optimal foraging theory*. PhD thesis, Oxford University, Oxford.

Cuthill, I.C. & Kacelnik, A. (1990). Central place foraging: a re-appraisal of the 'loading effect'. *Animal Behaviour* **40**, 1087-1101.

Cuthill, I.C., Kacelnik, A., Krebs, J.R, Haccou, P. & Iwasa, Y. (1990). Patch use by starlings: the effect of recent experience on foraging decisions. *Animal Behaviour* **40**, 625-640.

Daan, S. & Tinbergen, J.M. (1997). Adaptation of life histories. In: Krebs J.R. & Davies N.B. (Eds), *Behavioural Ecology: an evolutionary approach*, 4th Edition. Blackwell Science, Cambridge.

Denny, M.W. (1993). *Air and Water: the biology and physics of life's media.* Princeton University Press, Princeton.

Diss, A.L., Kunkel, J.G., Montgomery, M.E. & Leonard, D.E. (1996). Effects of maternal nutrition and egg provisioning on parameters of larval hatch, survival and dispersal in the gypsy moth, *Lymantria dispar* L. *Oecologia* **106**, 470-477.

Downer, R.G.H. (1981). Physiological and environmental considerations in insect bioenergetics. In: Downer, R. G. H. (Ed.), *Energy Metabolism in Insects.* Plenum Press, New York.

Downer, R.G.H. & Matthews, J.R. (1976). Patterns of lipid distribution in insects. *American Zoologist* **16**, 733-745.

Driessen, G. & Hemerik, L. (1992). The time and egg budget of *Leptopilina clavipes*, a parasitoid of larval *Drosophila*. *Ecological Entomology* **17**, 17-27.

Drost, Y.C. & Cardé, R.T. (1992). Influence of host deprivation on egg load and oviposition behaviour of *Brachimeria intermedia*, a parasitoid of gypsy moth. *Physiological Entomology* **17**, 230-234.

Einum, S. & Fleming, I.A. (2000). Highly fecund mothers sacrifice offspring survival to maximize fitness. *Nature*, **405**, 565-567.

Ellers, J. (1996). Fat and eggs: an alternative method to measure the trade-off between survival and reproduction in insect parasitoids. *Netherlands Journal of Zoology* **46**, 227-235.

Ellers, J., Sevenster, J.G. & Driessen, G. (2000). Egg load evolution in parasitoids. *American Naturalist* **156**, 650-665.

Ellers, J. & Van Alphen, J.J.M. (1997). Life history evolution in *Asobara tabida*: plasticity in

allocation of fat reserves to survival and reproduction. *Journal of Evolutionary Biology* **10**, 771-785.

Ellers, J., Van Alphen, J.J.M. & Sevenster, J.G. (1998). A field study of size-fitness relationships in the parasitoid *Asobara tabida*. *Journal of Animal Ecology* **67**, 318-324.

Evans, E.W. (1993). Indirect interactions among phytophagous insects: aphids, honeydew and natural enemies. In: Watt, A.D., Leather, S.R., Walters, K.E.F. & Mills, N.J. (Eds), *Individuals, Populations and Patterns in Ecology*. Intercept, Andover.

Fell, R.D. (1990). The qualitative and quantitative analysis of insect haemolymph sugars by high performance thin-layer chromatography. *Comparative Biochemistry and Physiology* **95**, 539-544.

Fisher, R.A. (1930). *The Genetical Theory of Natural Selection*. Dover, New York.

Flanders, S.E. (1950). Regulation of ovulation and egg disposal in the parasitic Hymenoptera. *Canadian Entomologist* **82**, 134-140.

Florkin, M. & Jeuniaux, C. (1964). Haemolymph: composition. In: Rockstein, M. (Ed), *The Physiology of Insecta*, Vol. III. Academic Press, New York.

Fox, C.W. & Czesak, M.E. (2000). Evolutionary ecology of progeny size in Arthropods. *Annual Review of Entomology* **45**, 341-369.

Fox, C.W., Roff, D.A. & Fairbain, D.J.F. (2001). *Evolutionary Ecology: concepts and case studies*. Oxford University Press, New-York.

Friedman, S. (1985). Intermediary metabolism. In: Blum M. S. (Ed.), *Fundamentals of Insect Physiology*. John Wiley & Sons, New York.

Fulton, B.B. (1933). Notes on *Habrocytus cerealellae*, a parasite of Angoumois grain moth. *Annals of the Entomological Society of America* **26**, 536-553.

Gauch, R., Leuenberger, U. & Baumgartner, E. (1979). Quantitative determination of mono-, di- and trisaccharides by thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography* **174**, 195-200.

Gauthier, N. & Monge, J.P. (1999). Could the egg itself be the source of the oviposition deterrent marker in the solitary endoparasitoid *Dinarmus basalis? Journal of Insect Physiology* **45**, 393-400.

Getz, W.M. & Mills, N.J. (1996). Host-parasitoid coexistence and egg limited encounter rates. *American Naturalist* **148**, 333-347.

Ghebregzabher, M., Rufini, S., Monaldi, B. & Lato, M. (1976). Thin-layer chromatography of carbohydrates. *Journal of Chromatography* **127**, 133-162.

Giron, D. & Casas, J. (2003a). Lipogenesis in an adult parasitic wasp. *Journal of Insect Physiology* in press.

Giron, D. & Casas, J. (2003b). Mothers reduce egg provisioning with age. *Ecology Letters* in press.

Giron, D., Rivero, A., Mandon, N., Darrouzet, E., Casas, J. (2002). The physiology of host-feeding: implications for survival. *Functional Ecology* **16**,750-757.

Godfray, H.C.J. (1987). The evolution of clutch size in parasitic wasps. *American Naturalist* **129**, 221-233.

Godfray, H.C.J. (1994). *Parasitoids: behavioural and evolutionary ecology.* Princeton University Press, Princeton.

Guisande, C. & Harris, R. (1995). Effect of total organic content of eggs on hatching success and naupliar survival in the copepod *Calanus helgolandicus*. *Limnology and Oceanography* **40**, 476-482.

Gustafsson, L. & Sutherland, W.J. (1988). The costs of reproduction in the collared flycatcher *Ficedula albicollis. Nature* **335**, 813-815.

Hagen, K.S. (1986). Ecosystem analysis: plant cultivars (HPR), entomophagous species and food supplements. In: Boethel, D.J. & Eikenbary, R.D. (Eds), *Interactions of Plant Resistance and Parasitoids and Predators of Insects.* Ellis Horwood Limited Press, West Sussex.

Hamilton, W.D.J. (1964). The genetical evolution of social behavior. *Journal of Theoretical Biology* **7**, 1-53.

Hart, P.J.B. & Gill, A.B. (1992). Choosing prey size: a comparison of static and dynamic foraging models for predicting prey choice by fish. *Marine Behavior and Physiology* **22**, 93-106.

Hassel, M.P. (2000). *The Spatial and Temporal Dynamics of Host-Parasitoid Interactions*. Oxford University Press, Oxford.

Hastie, T.J. & Tishirbani, R.J. (1990). *Generalized Additive Models.* Chapman & Hall, London.

Haunerland, N.H. & Shirk, P.D. (1995). Regional and functional differentiation in the insect fat body. *Annual Review of Entomology* **40**, 121-145.

Heimpel, G.E. & Collier, T.R. (1996) The evolution of host feeding behaviour in insect parasitoids. *Biological Reviews* **71**, 373-400.

Heimpel, G.E., Mangel, M. & Rosenheim, J.A. (1998) Effects of time limitation and egg limitation on lifetime reproductive success of a parasitoid in the field. *American Naturalist* **152**, 273-289.

Heimpel, G.E. & Rosenheim, J.A. (1995). Dynamic host feeding by the parasitoid *Aphytis melinus*: the balance between current and future reproduction. *Journal of Animal Ecology* **64**, 153-167.

Heimpel, G.E. & Rosenheim, J.A. (1998). Egg limitation in parasitoids: a review of the evidence and a case study. *Biological Control* **11**, 160-168.

Heimpel, G.E., Rosenheim, J.A. & Mangel, M. (1996). Egg limitation, host quality, and dynamic behavior by a parasitoid in the field. *Ecology* **77**, 2410-2420.

Heimpel, G.E., Rosenheim, J.A. & Adams, J.M. (1994). Behavioral ecology of host feeding in *'Aphytis'* parasitoids. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences* **16**, 101-115.

Heimpel, G.E., Rosenheim, J.A. & Kattari, D. (1997). Adult feeding and lifetime reproductive success in the parasitoid *Aphytis melinus. Entomologia Experimentalis et Applicata* **83**, 305-315.

Hochberg, M.E. & Ives, A.R. (2000). *Parasitoid Population Biology*. Princeton University Press, Princeton.

Hoffman, K.H. (1995). Stoffwechsel. In: Gewecke, M. (Ed), *Physiologie der Insekten.* Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.

House, H.L. (1974). Nutrition. In: Rockstein, M. (Ed.), *The Physiology of Insecta,* Vol. V. Academic Press, New York.

Houston, A.I, Clark, C., McNamara, J.M. & Mangel, M. (1988). Dynamic models in behavioural and evolutionary ecology. *Nature* **332**, 29-34.

Houston, A.I., Krebs, J.R. & Eichsen, J.T. (1980). Optimal prey choice and discrimination time in the great tit (*Parus major* L.). *Behavioural Ecology and Sociobiology* **6**, 169-175.

Houston, A.I. & McNamara, J.M. (1985). The choice of two prey types that minimises the probability starvation. *Behavioural Ecology and Sociobiology* **17**, 135-141.

Houston, A.I., McNamara, J.M. & Godfray, H.C.J. (1992). The effect of variability on host-feeding and reproductive success in parasitoids. *Bulletin of Mathematical Biology* **54**, 465-476.

Hugues, R.N. (1979). Optimal diets under the energy maximization premise: the effects of recognition time and learning. *American Naturalist* **113**, 209-221.

Iwasa, Y., Suzuki, Y. & Matsuda, H. (1984). Theory of oviposition strategy of parasitoids: effect of mortality and limited egg number. *Theoretical Population Biology* **26**, 205-227.

Jann, P. & Ward, P.I. (1999). Maternal effects and their consequences for offspring fitness in the yellow dung fly. *Functional Ecology* **13**, 51-58.

Jensen, P.V. & Borgesen, L.W. (2000). Regional and functional differentiation in the fat body of pharaoh's ant queens, *Monomorium pharaonis* (L.). *Arthropod Structure and Development* **29**, 171-184.

Jervis, M.A. & Copland, M.J.W. (1996). The life cycle. In: Jervis, M.A. & Kidd, N.A.C. (Eds), *Insect Natural Enemies: practical approaches to their study and evaluation.* Chapman & Hall, London.

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**, 42-458.

Jervis, M.A., Kidd, N.A.C. (1986). Host-feeding strategies in hymenopteran parasitoids. *Biological Reviews* **61**, 395-434.

Jervis, MA. & Kidd, N.A.C. (1996). Phytophagy. In: Jervis, M.A. & Kidd, N.A.C. (Eds), *Insect Natural Enemies: practical approaches to their study and evaluation.* Chapman & Hall, London.

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**, 67-105.

Jervis, M.A., Kidd, N.A.C. & Walton, M. (1992). A review of methods for determining dietary range in adult parasitoids. *Entomophaga* **4**, 565-574.

Kacelnik, A. (1984). Central place foraging in starlings (*Sturnus vulgaris*): patch residence time. *Journal of Animal Ecology* **53**, 283-299.

Kacelnik, A., Bruner, D. & Gibbon, J. (1990). Timing mechanisms in optimal foraging: some applications of scalar expectancy theory. In: Hugues, R.N. (Ed), *Behavioural Mechanisms of Food Selection.* Springer-Verlag, Berlin.

Kacelnik, A & Cuthill, I.C. (1987). Starlings and optimal foraging theory: modelling in a fractal world. In: Kamil, A.C., Krebs, J.R. & Pulliam, H.R. (Eds), *Foraging Behaviour*. Plenum Press, New York.

Kacelnik, A & Cuthill, I.C. (1990). Central place foraging in starlings (*Sturnus vulgaris*). Food allocation to chicks. *Journal of Animal Ecology* **59**, 655-674.

Karlsson, B. 1994 Feeding habits and change of body composition with age in three nymphalid butterfly species. *Oikos* **69**, 224-230.

Kawooya, J.K. & Law, J.H. (1988). Uptake of the major hemolymph lipoprotein and its transformation in the insect egg. *Journal of Biological Chemistry* **263**, 8740-8747.

Kelly, E.J. & Kennedy, P.L. (1993). A dynamic state variable model of mate desertion in Cooper's hawks. *Ecology* **74**, 351-366.

Kidd, N.A.C. & Jervis, M.A. (1989). The effects of host-feeding behaviour on the dynamics of parasitoid-host interactions, and the implications for biological control. *Researches in Population Ecology* **31**, 235-274.

Kidd, N.A.C. & Jervis, M.A. (1991a). Host-feeding and oviposition strategies of parasitoids in relation to host stage. *Researches in Population Ecology* **33**, 13-28.

Kidd, N.A.C. & Jervis, M.A. (1991b). Host-feeding and oviposition by parasitoids in relation to host stage: consequences for parasitoid-host population dynamics. *Researches in Population Ecology* **33**, 87-89.

Kiernan, J. A. (1990). *Histological and Histochemical Methods: theory and practice*, 2nd Edition. Pergamon Press, Oxford.

Koroleva, O.A., Tomos, A.D., Farrar, J.F., Gallagher, J. & Pollock, C.J. (2001). Carbon allocation and sugar status in individual cells of barley leaves affects expression of Fructose: Fructan 6-Fructosyltransferase gene. *Annals of Applied Biology* **138**, 27-32.

Krebs, J.R. & Davies, N.B. (1993). *An Introduction to Behavioural Ecology*, 3rd Edition. Blackwell Science, Oxford.

Krebs, J.R. & Kacelnik, A. (1993). Decision-making. In: Krebs J.R. & Davies N.B (Eds), *Behavioural Ecology: an evolutionary approach*, 3rd Edition. Blackwell Scientific Publications, Cambridge.

Lack, D. (1947). The significance of clutch size. *Ibis* **89**, 302-352.

LaMontagne, J.M. & McCauley, E. (2001). Maternal effects in *Daphnia*: what mothers are telling their offspring and do they listen? *Ecology Letters* **4**, 64-71.

Leius, K. (1961). Influence of various foods on fecundity and longevity of adults of *Scambus buolianae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Canadian Entomologist* **93**, 1079-1084.

Leta, M.L., Gilbert, C. & Morse, R.A. (1996). Levels of hemolymph sugars and body glycogen of honeybees (*Apis mellifera* L.) from colonies preparing to swarm. *Journal of Insect Physiology* **42**, 239-245.

Levins, R. (1968). *Evolution in Changing Environments*. Princeton University Press, Princeton.

Lewontin, R.C. (1965). Selection for colonizing ability. In: Baker H.G. & Stebbins G.L. (Eds), *The Genetic of Colonizing Species*. Academic Press, New York.

McArthur, R.H. & Pianka, E.R. (1966). On the optimal use of patchy environment. *American Naturalist* **100**, 603-609.

McFarlane, J. E. (1985). Nutrition and digestive organs. In: Blum, M. S. (Ed.), *Fundamentals of Insect Physiology*. John Wiley & Sons, New York.

McGinley, M.A. & Charnov, E.L. (1988). Multiple resources and the optimal balance between size and number of offspring. *Evolutionary Ecology* **2**, 77-84.

McGregor, R. (1997). Host-feeding and oviposition by parasitoids on hosts of different fitness value: influences of egg load and encounter rate. *Journal of Insect Behaviour* **10**, 451-462.

McIntyre, G.S. & Gooding, R.H. (2000). Egg size, contents, and quality: maternal-age and –size effects on house fly eggs. *Canadian Journal of Zoology* **78**, 1544-1551.

McNamara, J.M. & Houston, A.I. (1996). State-dependent life histories. *Nature* **380**, 215-221.

Mangel, M. (1987). Oviposition site selection and clutch size in insects. *Journal of Mathematical Biology* **25**, 1-22.

Mangel, M. (1989). Evolution of host selection in parasitoids: does the state of the parasitoid matter? *American Naturalist* **133**, 688-703.

Mangel, M. & Clark, C.W. (1986). Towards a unified foraging theory. *Ecology* **67**, 1127-1138.

Mangel, M. & Clark, C.W. (1988). *Dynamic Modeling in Behavioral Ecology*. Princeton University Press, Princeton.

Mangel, M. & Heimpel, G.E. (1998). Reproductive senescence and dynamic oviposition behaviour in insects. *Evolutionary Ecology* **12**, 871-879.

Mangel, M., Rosenheim, J.A. & Adler, F.R. (1994). Clutch size, offspring performance, and inter-generational fitness. *Behavioural Ecology* **5**, 412-417.

May, P.G. (1992). Flower selection and the dynamics of lipid reserves in two nectarivorous butterflies. *Ecology* **73**, 2181-2191.

Messina, F.J. & Fox, C.W. (2001). Offspring size and number. In: Fox, C.W., Roff, D.E. & Fairbairn, D.J. (Eds.), *Evolutionary Ecology: concepts and case studies*. Oxford University Press, Oxford.

Michaud, J.P. & Mackauer, M. (1995). Oviposition behaviour of *Monoctonus paulensis* (Hymenoptera: Aphidiidae): factors influencing reproductive allocation to host and host patches. *Annals of the Entomological Society of America* **88**, 220-226.

Minkenberg,O.P.J.M., Tatar, M. & Rosenheim, J.A. (1992). Egg load as a major source of variability in insect foraging and oviposition behaviour. *Oikos* **65**, 134-142.

Mullins, D.E. (1985). Chemistry and physiology of the haemolymph. In: Kerkut, G.A. & Gilbert, L.I. (Eds), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Pergamon Press, Oxford.

Naksathit, A.T., Edman, J.D. & Scott, T.W. (1999). Amounts of glycogen, lipid, and sugar in adult female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) fed sucrose. *Journal of Medical Entomology* **36**, 8-12.

Nayar, J. K. & Van Handel, E. (1971). The fuel for sustained mosquito flight. *Journal of Insect Physiology* **17**, 471-481.

O'Brien, D.M., Fogel, M.L. & Boggs, C.L. (2002). Renewable and nonrenewable resources: amino acid turnover and allocation to reproduction in Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 4413-4418.

O'Brien, D.M., Schrag, D.P. & Martinez del Rio, C. (2000). Allocation to reproduction in a hawkmoth: a quantitative analysis using stable carbon isotopes. *Ecology* **81**, 2822-2831.

Oberhauser, K.S. (1997). Fecundity, lifespan and egg mass in butterflies: effects of male-derived nutrients and female size. *Functional Ecology* **11**, 166-175.

Olson, D.M. & Andow, D.A. (1998). Larval crowding and adult nutrition effects on longevity and fecundity of female *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environmental Entomology* **27**, 508-514.

Olson, D.M., Fadamiro, H., Lundgren, J.G. & Heimpel, GE. (2000). Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology* **25**, 17-26.

Parker, G.A. & Courtney, S.P. (1984). Models of clutch size in insect oviposition. *Theoretical Population Biology* **26**, 27-48.

Perrin, N. & Sibly, R.M. (1993). Dynamic models of energy allocation and investment. *Annual Review of Ecology and Systematic* **24**, 379-410.

Pianka, E.R. (1970). On 'r' and 'K' selection. *American Naturalist* **104**, 592-597.

Price, P.W. (1973). Reproductive strategies in parasitoid wasps. *American Naturalist* **107**, 684-693.

Quicke, D.L.J. (1997). *Parasitic Wasps*. Chapman and Hall, London.

Reznick, D. (1985). Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* **44**, 257-267.

Rivero, A. & Casas, J. (1999a). Incorporating physiology into parasitoid behavioral ecology: the allocation of nutritional resources. *Researches in Population Ecology* **41**, 39-45.

Rivero, A. & Casas, J. (1999b). Rate of nutrient allocation to egg production in a parasitic wasp. *Proceedings of the Royal Society, London B* **266**, 1169-1174.

Rivero, A., Giron, D. & Casas, J. (2001). Lifetime allocation of juvenile and adult nutritional resources to egg production in a holometabolous insect. *Proceedings of the Royal Society, London B* **268**, 1231-1238.

Rivero, A. & West, S.A. (2002). The physiological costs of being small in a parasitic wasp. *Evolutionary Ecology Research* **4**, 407-420.

Roff, D.A. (1981). On being the right size. *American Naturalist* **118**, 405-422.

Roff, D.A. (1992). *The Evolution of Life Histories: theory and analyses.* Chapman & Hall, New York.

Roff, D.A. (2002). *Life History Evolution.* Sinauer Associates Inc., Sunderland.

Rogers, C.E. (1985). Extrafloral nectar: entomological implications. *Bulletin of the Entomological Society of America* **31**, 15-20.

Rosenheim, J.A. (1996). An evolutionary argument for egg limitation. *Evolution* **50**, 2089-2094.

Rosenheim, J.A. (1999). The relative contributions of time and eggs to the cost of reproduction. *Evolution* **53**, 376-385.

Rosenheim, J.A., Heimpel, G.E. & Mangel, M. (2000) Egg maturation, egg resorption and the costliness of transient egg limitation in insects. *Proceedings of the Royal Society of London* B **267**, 1565-1573.

Rosenheim, J.A. & Rosen, D. (1992). Influence of egg load and host size on host-feeding behaviour of the parasitoid *Aphytis lingnanensis*. *Ecological Entomology* **17**, 263-272.

Royle, N.J., Surai, P.F., McCartney, R.J. & Speake, B.K. (1999). Parental investment and egg yolk lipid composition in gulls. *Functional Ecology* **13**, 298-306.

Schliekelman, P. & Ellner, S.P. (2001). Egg size evolution and energetic constraints on population dynamics. *Theoretical Population Biology* **60**, 73-92.

Sevenster, J.G., Ellers, J. & Driessen, G. (1998). An evolutionary argument for time limitation. *Evolution* **52**, 1241-1244.

Shea, K., Nisbet, R.M., Murdoch, W.W. & Yoo, H.J.S. (1996). The effect of egg limitation in insect host-parasitoid populations models. *Journal of Animal Ecology* **65**, 743-755.

Simpson, S.J. & Raubenheimer, D. (1995). The mechanisms of nutritional homeostasis. In: Chapman, R. F., de Boer, G. (Eds.), *Regulatory Mechanisms in Insect Feeding.* Chapman & hall, London.

Sinervo, B. & Licht, P. (1991). Proximate constraints on the evolution of egg size, egg number, and total clutch mass in lizards. *Science* **252**, 1300-1302.

Sirot, E. & Bernstein, C. (1996). Time sharing between host searching and food searching in parasitoids: state-dependent optimal strategies. *Behavioural Ecology* **7**, 189-194.

Sisterson, M.S. & Averill, A.L. (2002). Costs and benefits of food foraging for a Braconid parasitoid. *Journal of Insect Behaviour* **15**, 571-588.

Smith, C.C. & Fretwell, S.D. (1974). The optimal balance between size and number of offspring. *American Naturalist* **108**, 499-506.

Stearns, S.C. (1976). Life history tactics: a review of the ideas. *Quarterly Review of Biology* **51**, 3-47.

Stearns, S.C. (1992). *The Evolution of Life Histories.* Oxford University Press, Oxford.

Stephens, D.W. & Krebs, J.R. (1986). *Foraging Theory.* Princeton University Press, Princeton.

Stevens, D.J., Hansell, M.H., Freel, J.A. & Monaghan, P. (1999). Developmental trade-offs in caddis flies: increased investment in larval defence alters adult resource allocation. *Proceedings of the Royal Society, London* B **266**, 1049-1054.

Stjernholm, F. & Karlsson, B. (2000). Nuptial gifts and the use of body resources for reproduction in the green-veined white butterfly *Pieris napi*. *Proceedings of the Royal Society of London* B **267**, 807-811.

Tatar, M. & Carey, J.R. (1995). Nutrition mediates reproductive trade-offs with age-specific mortality in the beetle Callosobruchus maculatus. *Ecology* **76**, 2066-2073.

Tinbergen, J. (1981). Foraging decisions in starlings. *Ardea* **69**, 1-67.

Tomos, A.D. (2000). The plant cell pressure probe. *Biotechnology Letters* **22**, 437-442.

Tomos, A.D. & Leigh, R.A. (1999). The pressure probe: a versatile tool in plant cell physiology. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**, 447-472.

Tomos, A.D., Leigh, R.A. & Koroleva, O.A. (2000). Spatial and temporal variation in vacuolar contents. In: Robinson, D.G. & Rogers, J.C. (Eds), *Vacuolar compartments*. Academic Press, Sheffield.

Tomos, A.D & Sharrock, R.A. (2001). Cell sampling and analysis (SiCSA): metabolites measured at single cell resolution. *Journal of Experimental Botany* **52**, 623-630.

Trudeau, D. & Gordon, D.M. (1989). Factors determining the functional response of the parasitoid *Venturia canescens*. *Entomologia Ecperimentalis et Applicata* **50**, 3-6.

Troy, S., Anderson, W.A. & Spielman, A. (1975). Lipid content of maturing ovaries of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Comparative Biochemistry and Physiology (B)* **50**, 457-461.

Truman, J.W. & Riddiford, L.M. (1999). The origins of insect metamorphosis. *Nature* **401**, 447-452.

Usherwood, P.N.R. 1975 *Insect Muscle*. Academic Press, London.

Valet, P. & Richard, D. (1997). *Les Lipides et la Cellule Adipeuse.* Editions Nathan, Paris.

Van Der Horst., D.J., Houben, N.M.D. & Beenakkers, A.M.T. (1980). Dynamics of energy substrates in the haemolymph of *Locusta migratoria* during flight. *Journal of Insect Physiology* **26**, 441-448.

Van Handel, E. (1965). Microseparation of glycogen, sugars and lipids. *Analytical Biochemistry* **11**, 266-271.

Van Handel, E. (1984). Metabolism of nutrients in the adult mosquito. *Mosquito News* **44**, 573-579.

Van Handel, E. (1985a). Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* **1**, 299-301.

Van Handel, E. (1985b). Rapid determination of total lipids in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* **1**, 302-304.

Van Handel, E. (1993). Fuel metabolism of the mosquito (*Culex quinquefasciatus*) embryo. *Journal of Insect Physiology* **39**, 831-833.

Van Handel, E. & Day, J.F. (1988). Assay of lipids, glycogen and sugars in individual mosquitoes: correlations with wing length in field-collected *Aedes vexans*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **4**, 549-550.

Van Lenteren, J.C., Van Vianen, A., Gast, H.F. & Kortenhoff, A. (1987). The parasite-host relationship between *Encarsia Formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera: Aleyrodidae). XVI: food effects on oogenesis, life span and fecundity of *Encarsia formosa* and other hymenopterous parasites. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* **103**, 69-84.

Van Noordwijk, A.J. & De Jong, G. (1986). Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life history tactics. *American Naturalist* **128**, 137-142.

Waage, J.K. (1986). Family planning in parasitoids: adaptive patterns of progeny and sex allocation. In: Waage, J.K. & Greathead, D. (Eds), *Insect Parasitoids*. Academic Press, London.

Waldbauer, G.P. & Friedman, S. (1991). Self-selection of optimal diets by insects. *Annual Review of Entomology* **36**, 43-63.

Warburg, M.S. & Yuval, B. (1996). Effects of diet and activity on lipid levels of adult Mediterranean fruit flies. *Physiological Entomolgy* **21**, 151-158.

Wheeler, C.H. (1989). Mobilization and transport of fuels to the flight muscles. In: Goldsworthy, G. J. & Wheeler, C. H. (Eds.), *Insect Flight.* CRC Press, Boca Raton.

Wilbur, H.M. (1991). Multistage life cycles. In: Rhodes, O.E., Chesser, M.H. & Smith, M.H. (Eds), *Population Dynamics in Ecological Space and Time.* The University of Chicago Press, Chicago.

Williams, G.C. (1966). *Adaptation and Natural Selection.* Princeton University Press, Princeton.

Wilson, K. (1994). Evolution of clutch size in insects. A test of static optimality models using the beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Evolutionary Biology* **7**, 365-386.

Wilson, K. & Lessells, C.M. (1994). Evolution of clutch size in insects. A review of static optimality models. *Journal of Evolutionary Biology* **7**, 339-363.

Winkler, D.W. & Wallin, K. (1987). Offspring size and number: a little history model linking effort per offspring and total effort. *American Naturalist* **129**, 708-720.

Wyatt, G.R. (1961). Haemolymph composition. *Annual Review of Entomology* **6**, 75-102.

Zar, J.H. (1984). *Biostatistical Analysis*, 2nd Edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs.

Ziegler, R. (1997). Lipid synthesis by ovaries and fat body of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *European Journal of Entomology* **94**, 385-391.

Ziegler, R. & Schulz, M. (1986). Regulation of carbohydrate metabolism during flight in *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology* **32**, 997-1001.

Zinna, G. (1959). Ricerche sugli insetti entomofagi. Specializzazione entomoparassitica negli Encyrtidae: Studio morfologico, etologico e fisiologico del "Leptomastix dactylopii" Howard. *Bolletino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri' di Portici* **18**, 1-150.

Ecologie nutritionnelle et traits d'histoire de vie chez les parasitoïdes : mécanismes physiologiques et conséquences

Chez les insectes, le succès reproducteur est intimement lié aux ressources nutritives dont dispose la femelle ainsi qu'à leur allocation au sein de l'organisme. Grâce à une étude physiologique détaillée du nourrissage sur l'hôte chez deux ectoparasitoïdes synovigéniques nous avons identifié et quantifié les nutriments obtenus lors du nourrissage sur l'hôte et testé leurs effets sur les traits d'histoire de vie des femelles. En utilisant des techniques de micro-extraction et de colorimétrie, nous avons prouvé que les parasitoïdes consomment l'hémolymphe de leur hôte lors du nourrissage sur l'hôte. L'utilisation d'acides aminés radioactifs nous a permis de suivre l'incorporation des nutriments ingérés dans chacun des œufs pondus par une femelle tout au long de sa vie, confirmant ainsi un lien direct entre nourrissage sur l'hôte et fécondité. L'utilisation de chromatographie en couche mince et de micro-injections a mis en évidence que les principaux sucres obtenus au cours du nourrissage sur l'hôte, le tréhalose et le saccharose, sont responsables de l'augmentation de survie observée suite au nourrissage. Le rôle des autres nutriments, en particulier des lipides, reste à élucider. L'analyse de l'évolution de la qualité des œufs tout au long de la vie d'une femelle, la mise en évidence d'une incapacité à produire des lipides par lipogenèse ainsi que la faible quantité de lipides acquise lors du nourrissage sur l'hôte indiquent que les lipides pourraient être limitants. En conclusion, le nourrissage sur l'hôte permet aux femelles d'assurer les dépenses métaboliques liées aussi bien à la maintenance qu'à la fécondité. D'autre part, l'investissement des éléments nutritifs dans les œufs successifs est une stratégie optimale incorporant aussi bien la survie de la mère que celle des descendants, elle-même dépendante de l'investissement maternel. Ces résultats ont des implications majeures sur l'écologie comportementale des parasitoïdes.

Mots clés : écologie nutritionnelle; traits d'histoire de vie; décision comportementale optimale; règles d'allocation; investissement parental; taille des œufs; métabolisme des lipides; nourrissage sur l'hôte; parasitoïdes; *Dinarmus basalis*; *Eupelmus vuilletti*; marquage radioactif; analyses colorimétriques; micro-manipulation.

Foraging ecology and life-history traits in parasitic wasps: physiological mechanisms and implications

In insects reproductive success is strongly determined by the nutritional resources available to females and by the allocation rules of these nutrients in the organism. By carrying out a detailed physiological investigation of the host-feeding in two ectoparasitoid synovigenic, we have identified and quantified resources obtained by the parasitoid and tested the effects of these nutrients on female life-history traits. By micro-extraction and colorimetric techniques, we have proved that parasitoids consume host's haemolymph during a host-feeding event. Using radioactively labelled amino acids, one of the main constituents of insect haemolymph, we followed the incorporation of the ingested nutrients into each individual egg laid over the average life span and confirmed a direct link between host-feeding and fecundity. Thin layer chromatography and micro-injection experiments showed that the two major sugars obtained by the parasitoid during host-feeding, trehalose and sucrose, are entirely responsible for the increased longevity observed in host-fed females. But, far less clear is the role of other nutrients, particularly lipids. The analysis of the evolution of egg quality during all the females' lifetime, the incapacity of females to produce lipids by lipogenesis and, the little amount of lipids obtained by feeding seem to indicate that lipids are limiting in this species. To conclude, host-feeding enables females to sustain reproduction as well as maintenance. Moreover, the allocation of nutrients in successive eggs is an adaptive strategy incorporating mother survival as well as offspring fitness, the later being dependent on mother's investment. These results have major implications for parasitoid behavioural ecology.

Key words : foraging ecology; life-history strategies; optimal behavioural decision; allocation rules; parental investment; egg size; lipid metabolism; host-feeding; parasitoid; radioactive labelling; colorimetric analyses; micro-manipulation.

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte
CNRS-UMR 6035
Faculté des Sciences et Techniques, Université de Tours, 37200 Tours - France