HAL
open science

Effets du réchauffement climatique sur la performance d'un ravageur des cultures et impact sur les relations tritrophiques

Corentin Iltis

To cite this version:

Corentin Iltis. Effets du réchauffement climatique sur la performance d'un ravageur des cultures et impact sur les relations tritrophiques. Sciences agricoles. Université Bourgogne Franche-Comté, 2019. Français. NNT : 2019UBFCK051 . tel-02479851

HAL Id: tel-02479851

https://theses.hal.science/tel-02479851

Submitted on 14 Feb 2020

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.

THÈSE DE DOCTORAT DE L'ÉTABLISSEMENT UNIVERSITÉ BOURGOGNE FRANCHE-COMTÉ

Préparée à l'Unité Mixte de Recherche CNRS 6282 Biogéosciences

École doctorale n°554, Environnements-Santé

Doctorat de Science de la vie, spécialité Écologie Évolutive

Par

Corentin ILTIS

Effets du réchauffement climatique sur la performance d'un ravageur des cultures et impact sur les relations tritrophiques

---

Thèse présentée et soutenue à Dijon, le 11 décembre 2019

Composition du Jury :

Gibert, Patricia	Directrice de Recherche CNRS, Université Lyon 1	Rapporteure, Présidente
Vernon, Philippe	Directeur de Recherche CNRS, Université Rennes 1	Rapporteur
Van Baaren, Joan	Professeure, Université Rennes 1	Examinatrice
Pincebourde, Sylvain	Chargé de Recherche CNRS, Université Tours	Examinateur
Moreau, Jérôme	Maître de Conférences, Université Bourgogne Franche-Comté	Directeur de thèse
Louâpre, Philippe	Maître de Conférences, Université Bourgogne Franche-Comté	Codirecteur de thèse

ÉCOLE DOCTORALE
Environnements - Santé
Bourgogne | Franche-Comté

Titre : Effets du réchauffement climatique sur la performance d'un ravageur des cultures et impact sur les relations tritrophiques

Mots clés : approche multi-trait, fluctuations thermiques, interactions hôte-parasitoïde, *Lobesia botrana*, réchauffement climatique, vigne

Résumé : Le réchauffement climatique va avoir des répercussions profondes sur les organismes vivants, en particulier les ectothermes comme les insectes, dont la physiologie et le comportement sont intimement liés à la température de leur environnement. Cette thèse propose d'étudier, par voie expérimentale, les conséquences du réchauffement climatique sur la performance d'un ravageur majeur de la vigne en Europe, l'eudémis (*Lobesia* botrana), et les conséquences pour l'interaction entre ce phytophage et les niveaux trophiques associés, en particulier les ennemis naturels (parasitoïdes). Les travaux se focalisent sur trois facettes du réchauffement climatique : une augmentation de température moyenne, une altération de l'amplitude thermique journalière, et l'occurrence d'une vague de chaleur.

Les résultats attestent d'un impact des températures sur les traits reliés à la performance larvaire (capacités de défense des chenilles contre les ennemis naturels) et sur la reproduction des adultes, ainsi que sur l'interaction entre ce ravageur et un parasitoïde oophage. Par ailleurs, une importante variabilité de réponses thermiques est observée entre traits et parfois entre facettes du changement climatique, laissant suggérer des conséquences complexes de ce dernier sur la dynamique des populations du ravageur. Ainsi, prédire la réponse d'une espèce au réchauffement climatique nécessite d'adopter une vision relativement intégrative de la biologie de cette espèce, ainsi que de la complexité des changements se produisant au niveau de l'environnement thermique de l'organisme.

Title : Impacts of climate change on the performance of an insect pest and associated consequences for tritrophic interactions

Keywords : multi-trait approach, thermal fluctuations, host-parasitoid interactions, *Lobesia botrana*, climate change, grapevine

Abstract : Global warming poses a major challenge to living organisms, particularly for ectothermic animals like insects, whose physiology and behaviour are closely related with direct thermal surroundings. This thesis aims at experimentally investigating the impacts of climate change on the overall performance of a major grapevine pest, the European grapevine moth (*Lobesia botrana*), and the associated consequences for interactions involving this phytophagous insect and adjacent trophic levels, more specifically natural enemies (parasitoids). The experiments conducted focus on three facets of climate change: an increase in mean temperature, an alteration of daily thermal range, and the occurrence of heat waves as extreme thermal events.

Results highlight an impact of temperatures on both life-history traits related with larval performance (defensive abilities of caterpillars) and adult reproductive success, with demonstrated repercussions for the interaction between this pest and an oophagous parasitoid. Furthermore, they reveal an important variability of thermal responses occurring among traits and even facets of climate change, thereby suggesting complex consequences of this phenomenon in terms of pest population dynamics. Hence, predicting a species response to climate change requires adopting an integrative perspective of the biology of the focal species while considering the complexity of changes occurring in insect direct thermal environment.

UBFC
UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE

Université Bourgogne Franche-Comté
32, avenue de l'Observatoire
25000 Besançon

REMERCIEMENTS

Jules Renard disait : « Un ami, c'est celui qui devine toujours quand on a besoin de lui. » Moi je dirais plutôt qu'un ami, c'est celui qui attend que tu te fasses doubler par le deuxième avant d'envoyer sa carapace bleue à Mario Kart. Mais je pense que ce n'est qu'une formulation un peu plus explicite de l'idée originelle de l'auteur. Enfin je crois ?

Bon. Les remerciements. J'ai cru comprendre que c'était la partie la moins conventionnelle de la thèse. Alors, accrochez-vous ! (comme dirait Sam à Frodon quand il lui tend la main au-dessus du cratère en fusion de la Montagne du Destin).

Je tenais évidemment à commencer par remercier mes deux chers chefs, Jérôme Marot et Philippe Loupare (ça, c'est pour m'avoir appelé Corentin Itlis à plusieurs reprises 😉). Commençons par le plus Breton des deux.

Jérôme (Philippe en pls mouhahahaha). On se connaît depuis ~~bien trop longtemps~~ 5 ans maintenant. Pour faire simple, je ne serais jamais arrivé ici sans toi (bah oui, je n'aurais sûrement jamais eu de thèse !). Merci, avant toute chose, de m'avoir sollicité pour ce sujet de thèse, à l'époque où une phrase sans les mots « invasions biologiques » m'aurait paru inintéressante au possible (seule exception : « Tu veux d'la cancoillotte Coco ? »). Oui, ma largeur d'esprit était en discordance certaine avec la vision holistique absolument indispensable dans le but de cerner la valeur heuristique des effets idiosyncratiques de la température sur les traits d'histoire de vie du ravageur au cours de la thèse (une phrase qui devrait te plaire, bien que je ne certifie pas son sens). Je me rappelle alors de ton argumentaire : « Oui on bosse sur *Lobesia* en Bourgogne, mais t'inquiète c'est invasif au Chili ». *Say no more*. J'étais déjà turbo chaud, comme on dit dans le milieu. Je pense que ta capacité à comprendre les gens, à les convaincre et les mobiliser, en bref ton sens du relationnel, est ce qui m'a toujours plu (et impressionné) chez toi. Et c'est aussi pour ça que j'ai accepté de travailler avec toi. Merci de m'avoir accordé toute ta confiance dès le début, je dois dire que cela a beaucoup joué pour compenser mon manque naturel de confiance en moi, à l'époque où je manipais encore avec les coudes (n'essayez pas cela chez vous). La confiance et l'estime des autres, c'est en partie ce qui me motive à travailler, et je pense que tu l'as très vite compris. Je dois aussi reconnaître que l'objectif des 10 papiers de thèse est toujours resté dans un coin de ma tête, et ça m'a permis de me défoncer, c'est quand même beau de ne pas y arriver au final (*pleure*). Un autre aspect de ta personnalité qui m'a beaucoup plu, c'est aussi ton pragmatisme. Je vais essayer de m'en inspirer par la suite, moi qui ai tendance à me prendre la tête pour tout et n'importe quoi ! Et sinon, que dire. Que tes choix footballistiques sont douteux ? (merci pour cette soirée dégustation de Bordeaux devant un bon gros 0-0 de l'Équipe de France). Merci pour tous ces compliments, encouragements (et lettre de recommandation du tonnerre !). Je n'évoquerai pas les 15 jours au Japon pour des raisons que tu connais très bien (un beau pays le Japon, le seul au monde où les transports en commun sont gratos, trop cool !). Je n'irai pas jusqu'à dire « merci pour tes blagues », mais disons merci d'avoir essayé d'enjailler l'ambiance de temps à autre hein ! En bref, merci pour ton soutien inconditionnel, même si tu n'étais pas toujours présent physiquement au labo, j'avais ce ressenti que mes choix scientifiques étaient validés par le regard approbateur et magnanime de Don Moro. Tout ça pour recevoir le soir même un message Facebook « Eh j'ai retrouvé ta *tusaisquoi* en Amazonie tu veux que je te la ramène dans un bac de glace ? ».

Philippe. Alors on ne commence pas toujours une thèse avec la confiance de son directeur de thèse (à ta décharge, tu es le premier à m'avoir vu maniper des produits chimiques en M2, RIP tes pipettes d'ailleurs). Déjà, merci de m'avoir fait prendre conscience que les coudes se prolongent par des organes préhensiles, les « mains » (l'ai-je orthographié correctement ?), qui se révèlent ma foi fort

pratiques lorsqu'on doit utiliser tout un florilège de produits chimiques aussi néfastes pour la santé que se faire l'intégrale des saisons Derrick en une seule journée. Passons la difficulté des manips, moi qui pensais être plutôt pas trop mauvais en rédaction, je me suis ensuite confronté au froid et implacable style du Père Louâpre (qui cache en fait une certaine verve, presque insoupçonnable). « *Don't be clever, be clear !* » est une phrase que j'ai dû entendre au moins autant de fois que « *Ah bon y a internet en Franche-Comté ?* ». Le style Louâpre, ou l'art de transformer un « *We adopted a holistic, ecologically relevant approach to shed additional light on the possible mechanisms underlying the evolution of the superiority of Brittany guys within the French mesocosm* » en « *We adopted an approach*. ». Je n'aurai jamais autant souffert de voir mes petites phrases chéries de 6 lignes, qui comprennent 3 synonymes différents de « durée de développement », se faire violenter à coup de « !!!!! », de « ???? », ou encore de « !!!??? » (ce qui correspond évidemment à un sentiment intermédiaire entre les deux premières expressions, à savoir à mi-chemin entre la consternation et le dégoût face à l'abjecte vision d'un simulacre de bon sens qu'il faut percevoir en recollant la fin de la phrase au début de celle-ci, 4 lignes plus haut). Mais au final, je ne suis pas peu fier d'avoir réussi à gagner ta confiance à l'issue de ces 3 années de thèse (ce qui m'octroie le bénéfice rare de pouvoir te faire cosigner un papier comprenant une phrase qui commence par « Because »). Alors oui, tu as toujours été exigeant, mais cette exigence est accordée avec cette grande implication au quotidien dans le travail des thésards. En voyant ce bureau entrouvert au fond du couloir à droite, d'où sortait un faisceau de lumière, allégorie de la lame blafarde et immaculée du Breton qui pourfend les oppressantes ténèbres bourguignonnes (n'est-ce pas ?), j'avais toujours envie de m'arrêter 5 minutes pour poser un peu toutes les questions qui me passaient par la tête. Un grand merci pour ta disponibilité, pour ces discussions sur tout et n'importe quoi susceptible de me chagriner (sachant que prendre 2 trams à la suite pour aller à la périphérie de Dijon est un sujet anxiogène pour moi, j'imagine que tu as dû prendre sur toi !). Merci pour les compliments dont, à l'instar de Jérôme, tu n'es pas avare (je dois dire que recevoir « Beau papier » ou « Très bon plan, bien structuré » de ta part a une saveur toute particulière 😉). Merci pour la super lettre de recommandation, en ta qualité maintenant affirmée d'expert international (Iltis et al. 2019). Merci aussi pour ton optimisme inconditionnel, vous écouter Jérôme et toi m'a souvent permis de repartir gonflé à bloc dans les périodes un peu creuses. Merci pour ce colloque à Antibes, c'était de bons moments. Et merci de prendre note que ce texte est écrit depuis un ordinateur, lui-même relié à un câble Ethernet, lui-même relié à une box internet, le tout en Franche-Comté (preuve irréfutable de la présence d'internet dans cette belle région).

Ma famille. Il m'aurait été impossible d'arriver au bout de ces 3 années de thèse sans le soutien indéfectible de ma famille, avec déjà une pensée toute particulière pour mes parents et ma grande sœur. Merci pour tous moments passés ensemble, qui m'ont permis de me vider la tête et d'oublier les tracas du quotidien d'un thésard. J'ai essayé, et m'efforce toujours, de m'inspirer de vous car vous m'avez enseigné les vertus et la valeur du travail, ce qui est aujourd'hui mon credo. Merci pour les ballades au cheval (je suis désolé, mais je ne perpétuerai pas cette passion familiale), pour les pizzas au camion (« chez l'copain »), pour les nombreux films partagés ensemble, pour toutes les petites attentions à mon égard (bonbons et autres bières)… Je ne suis pas du genre expressif, comme vous le savez, mais vous savez aussi que vous avez toute ma reconnaissance pour tout ce que vous avez fait durant ces 8 années d'étude. Marine, merci de faire la conversation (et de donner des nouvelles) pour deux à ma place ! L'énergie n'a pas été répartie équitablement entre les enfants, je veux bien que tu me donnes un peu de ton rab d'énergie débordante ! Merci pour ton dynamisme, ton positivisme, ton humour. Merci pour les nombreuses parties de jeux vidéo passées ensemble, que ce soit sur Smash, Mario Kart ou Spyro (maintenant tu arrives les niveaux de vol toute seule comme une grande 😉). Oliv', merci à toi aussi pour ta bonne humeur, toujours un plaisir de te voir

et d'échanger ensemble (une petite partie de yams, maintenant que je sais jouer !) autour d'une bonne bière ou un bon verre de vin ! Continue sur Mario Kart, tu t'améliores 😉 Malone, parrain (ou Coco, comme tu le dis si bien) va être docteur ! Je remercie également ma famille Dijonnaise, en particulier ma tante Léo et mon oncle Marc. Merci pour le grand intérêt que vous avez porté à ma thèse (et ces discussions sur cette saleté de pyrale du buis !). Merci pour votre hospitalité à de nombreuses reprises (ces excellents repas), et ces invitations au couscous (Chez Arthur, comme Olivier le dit si bien !). Merci aussi pour ces petites promenades dominicales à la découverte de la campagne bourguignonne, j'ai adoré ! En bref, merci pour tous ces moments passés en votre compagnie ! Je lâche aussi un petit big up à mes cousines, Mathou et LNA, pour ces moments de rigolade (doublééé, tripléééé, formidaaaable). Plus conventionnellement et plus généralement, merci dans l'ensemble à toute ma famille, avec une pensée très forte à mes grands-parents (Suzanne et Pierre, Sylvette et René), pour leur soutien au cours de ces trois années de thèse.

La team de doctorants du fond du couloir. Comment envisager de se plaire au laboratoire sans une bonne ambiance de travail avec les collègues du bureau (et des bureaux voisins) ? À ce titre, je tiens tout particulièrement à remercier les supers doctorants avec qui j'ai partagé tous ces moments de franche camaraderie (en disant ça, j'ai l'impression qu'on a passé notre temps à bouffer du saucisson et du fromage dans un alpage, en chantant des chansons paillardes devant un feu de cheminée, ce qui est une description finalement pas si éloignée que ça de la réalité tout compte fait !). Par ordre chronologique, je tiens d'abord à remercier Chloé (ma « grande sœur de thèse ») qui a tout de suite cru en ma gentillesse à l'époque où j'arrivais encore tout timide au laboratoire, osant à peine me présenter. Merci Chloé d'avoir aussi déceler en moi cet incroyable potentiel de maîtrise de l'administration sous ses différentes formes (réinscription en thèse, bon de commande, ordre de mission, je sais absolument tout faire maintenant) et de m'avoir enseigné les filons du métier, aujourd'hui une nouvelle passion et vocation pour moi ! Merci d'avoir ri à (presque) toutes mes blagues, au moins je n'ai pas fait le contorsionniste en rentrant dans l'armoire du bureau pour rien ! Merci pour tes conseils (pas que administratifs hein 😉) toujours très avisés ! Restons dans le bureau des vrais (i.e. celui du fond à gauche, évidemment), je tiens également à remercier les doctorants qui sont arrivés par la suite et ont permis de maintenir cette ambiance si chaleureuse. Merci à Antoine, mon voisin d'en face, d'avoir répondu à mes incessantes questions sur les stats et la maîtrise de l'outil informatique en général. La combinaison de ces 2 fléaux donnant naissance à une chimère particulièrement redoutable : R (objet de moultes interrogations t'étant destinées). J'aurais aimé te rendre la pareille plus souvent, mais, hormis l'administration, il existe peu de domaines dans lesquels j'excelle au point de pouvoir conseiller mes collègues (si jamais t'as une question un jour sur un bon de commande, tu sais à qui ne pas t'adresser !). Clémentine, j'espère que ces remerciements te retrouveront en forme après ton expédition dans la forêt gabonaise 😉 Continue à affirmer le besoin perpétuel de bons petits plats végétariens face aux côtes de porc cuisson semelle du chef zehef, du chef Francis ou encore du chef « Joseph saucisses ». Il faut calmer leurs pulsions de carnivores exclusifs pour le bien de toute l'humanité ! Nicolas, quelle est ta localisation géographique ? Je te nomme officiellement nouvel ambianceur du bureau (pas très bien payé comme boulot, mais avec les revenus générés par le démarchage commercial de ta célèbre méthode thaïlandaise d'hypertrophie de certains organes, je pense que tu devrais réussir à joindre les deux bouts). Merci pour ton humour au quotidien et ta capacité à cerner les prénoms des gens rien qu'à leur apparence physique (on sait tous que le chef Joseph saucisses s'appelle vraiment Joseph et qu'il se pointe à un barbeuc végan avec une barquette assortiment de 14 saucisses de porc, poulet et boeuf). Je change de bureau pour remercier les autres doctorants du fond du couloir, notamment Marion et son super t-shirt Carapuce (je dois t'avouer que je suis plutôt team Bulbizarre, mais Carapuce est bien cool aussi !). Merci à Laurie pour ses passages réguliers, surtout pendant la pause café du midi, qui

viennent régulièrement égailler le bureau (je me rappelle d'un jour où on cherchait si les villes les plus pourries qu'on connaisse avaient une fac). Adrien, merci pour ces nombreuses discussions (qui tournaient souvent autour des zouzes, il faut le reconnaître), pour ton humour, ton énergie débordante et ta bonne humeur au quotidien. Outre un excellent conseiller zouzistique, tu es également le véritable apothicaire des doctorants : merci pour les thés, le miel et la dégustation d'absinthe qui remet le facteur sur le vélo ! Charly, il va falloir que tu regardes un peu plus loin dans les remerciements. Silène, c'était un plaisir de partager les quelques mois de ta présence au labo. Merci d'avoir fait la livraison des petits trichogrammes pour les manips. Merci d'avoir fait un petit bol de salade de fruits sans kiwi pour le petit être allergique que je suis, elle était délicieuse. J'espère que Corentin (celui que tu as eu en stage) ne t'a pas trop mené la vie dure ! Merci pour ton sourire et ta bonne humeur ! Merci à Manon (tu fais partie intégrante de la team des doctorants après tout !), c'était une chouette première année passée en ta compagnie (comme pour Julien c'est passé beaucoup trop vite). Alouexe, des novices en écologie doctorale pourrait omettre ton appartenance à la guilde des doctorants, mais les similitudes de ton régime alimentaire avec celui de ces êtres vivants (je pense notamment à ces dégustations de pizza au kebab et de raclette chez toi) ne trompent pas ! Avant de te remercier, je vais déjà m'excuser d'avoir failli à ma tâche de faire survivre les plantes sur le bord de la fenêtre de mon bureau (c'est pas faute de m'avoir donné de ton « eau magique » pourtant). Merci pour ces petits passages qui viennent régulièrement égailler le bureau, tout ça pour venir exhiber ton pull démontrant la supériorité des Bourguignons après avoir raconté une petite blague sur les Francs-Comtois (tout bien réfléchi, c'était pas si égaillant que ça en fait…). Merci pour toutes ces découvertes musicales (il faudra que tu me rappelles le titre de la chanson sur la cancoillotte, j'oublie à chaque fois). En parlant de musique, j'espère que tu trouveras un casque audio à la hauteur de la qualité de ta playlist sur Deezer 😉 Enfin, merci pour le spectacle offert lors de ces matches endiablés de la JDA ! Voilà, je crois avoir fait le tour des doctorants. Hein ? Qu'entends-je dans mon oreillette ? « Y a l'air que tu m'as oublié et que je vais me servir de ta tronche pour récurer le sol chez moi la prochaine fois que tu viens dans le Nord » ? Sûrement une interférence.

Les autres membres du labo. Merci à Monsieur le Professeur Émérite Martin Pêcheur pour ses précieux conseils en termes de plans d'échantillonnage, de protocoles, de collectes de données, d'analyses statistiques, et de rédaction de manuscrit. J'ai ensuite une pensée particulière pour les compagnons de ces nombreuses pérégrinations culinaires, ceux qui ont bravé les aspirations, bien souvent exotiques, du « Petit Chef » du RU, ceux qui n'ont jamais eu peur d'affronter le boudin antillais, le bœuf malgache ou encore le poisson à la polonaise (même si tout ça finissait souvent en bavette ou andouillette à la française…) : merci à Yannick et Thierry ! Toujours un plaisir de vous retrouver tous les midis (enfin, tous les 11h30-45 plutôt, la ponctualité de Thierry nous aura évité moultes files d'attente 😉). Merci pour ces discussions toujours très intéressantes et animées, que cela soit de rugby (j'essaierai un jour d'apprendre les règles, promis), d'ornitho ou de toute autre chose. C'était tellement ancré dans ma routine au labo que je peux vous considérer comme mes seconds papas de thèse après tout (quel honneur hein ?) ! J'espère que vous ferez tourner le commerce de bavettes du Petit Chef en mon absence (je me fais du souci pour lui, il va s'ennuyer maintenant). Oubliez pas de saluer chaleureusement Christine Purée pour moi (une autre qui risque aussi de s'ennuyer, à moins qu'elle ne se trouve une nouvelle victime sur laquelle exercer sa définition toute particulière de l'amabilité et du sens du relationnel). En parlant de RU, merci aussi à Rémi (un autre habitué, bien qu'un peu moins fréquent), j'ai bien aimé ce TP identification escargots avec toi (même s'il a souvent fini en TP « extraction de tiques » à mon retour du terrain). Merci à FX pour être toujours de si bon conseil sur les stats (là, j'imagine que je ne fais pas dans l'originalité), et pour ces discussions plus générales, sur tout et n'importe quoi, à la salle café. Bienvenue à Gabrielle,

qui récupère le bureau de FX (le contraste capillaire est saisissant !). Nicole, merci pour ces petites discussions (parfois très matinales) dans les couloirs du labo, que ça soit sur le temps, sur les anciens doctorants, ou sur n'importe quel autre sujet. Toujours plaisant de croiser quelqu'un avec la pêche si tôt dans la journée (enfin, j'imagine que 8h du matin c'est pas si tôt que ça pour toi, au final !). Aude, merci d'avoir donné un coup de main dans les périodes les plus chargées des manips. Moi qui ne suis pas toujours du genre loquace, merci d'avoir fait si souvent la discussion (de toutous et autres) pendant les manips, ça aide à ce qu'elles passent plus vite ! Seb, déjà merci de m'avoir sauvé la vie en retirant cette tique que j'avais choppée sur le terrain (je dramatise à peine la situation). Merci aussi pour le soutien apporté pour la préparation des manips, je pense surtout à mon stage de M2, au cours duquel j'ai pu me rendre compte que ta réputation de « MacGyver du labo » était loin d'être usurpée ! Maria, un grand MERCI pour ton extrême patience à l'encontre de ma maladresse quelque peu problématique dès qu'on doit maniper des produits plus dangereux que de l'eau distillée. J'imagine que tu passeras de meilleures nuits, en sachant que les chloroforme, méthanol, acide sulfurique, formaldéhyde et autres autoclaves (bon, là on sait tous que c'était la faute de Karolina, bien évidemment) ne passeront plus entre mes mains « expertes ». Merci à Stéphane de m'avoir fait confiance pour les cours de stats des Licence pendant deux années consécutives (j'espère ne pas avoir laissé derrière moi deux générations d'étudiants viscéralement réticents aux stats et à R). Merci à Aurélie, Bruno, Rémi (l'autre Rémi cette fois) et Fred Marin : toujours un plaisir de croiser des personnes souriantes comme vous dans les couloirs ! Autant Maria a dû faire avec ma maîtrise parfois un peu aléatoire des règles de sécurité, autant Isabelle a dû pallier à ma nullité absolue en termes de connaissances administratives (même si j'ai fait quelques progrès à force de poser toujours les mêmes questions à Chloé). Donc un très grand MERCI à toi Isa (et à tout le secrétariat de Biogéosciences dans son ensemble) pour être aussi efficace professionnellement et humainement aussi conciliante et pédagogue. Merci d'être aussi présente et disponible en cette fin de thèse particulièrement chargée, merci aussi d'avoir sauvé le fameux manuscrit de thèse qui commençait par la page 43 (tu es une chef en matière de découpage 😉). En parlant de sauvetage, merci à Stéphane Gadreau d'avoir ramené mon PC à la raison quand il refusait obstinément de se connecter à Internet. Je monte d'un étage et en profite pour remercier les collègues « climatos », Sébastien et Benjamin, pour leur précieuse collaboration au cours des manips et ces échanges très instructifs sur votre domaine d'expertise, cela m'a beaucoup aidé au cours de ma thèse. Enfin, un merci général à tous les membres du laboratoire Biogéosciences pour avoir rendu ces 3 années de thèse si agréables.

Les collaborateurs extérieurs. Un très, très, très grand MERCI à Lionel pour avoir assuré l'intégralité de la fourniture en bestioles (sans faille) pour le besoin des différentes expériences. Aucune manip n'aurait pu être envisagée sans ton grand professionnalisme, merci à toi Lionel ! En restant à Bordeaux, merci à Denis pour sa contribution aux travaux conduits durant cette thèse, et à la rédaction des articles. Merci aussi à Géraldine pour avoir fourni les trichogrammes et pour ses précieux conseils sur ces bêbêtes assez mal connues ici à Dijon. On quitte le sud de la France et on remonte beaucoup, beaucoup plus au Nord : merci aux collaboratrices Lilloises, Céline et Aurélie, pour les analyses immunologiques réalisées (que de résultats prometteurs !).

Le comité de thèse. Merci aux membres du comité, Virginie, Aurélie, Joan et Fanny, pour avoir bravé les 200 diapos du PowerPoint récapitulatif de la 1ère année de thèse, et pour ces discussions scientifiques et humaines très constructives. Un merci tout particulier à Fanny, que j'ai sollicitée à maintes reprises pour des questions sur les manips et les protocoles. Merci de m'avoir si souvent éclairé avec tes conseils (pas uniquement scientifiques) et ton expertise ! Je remercie également les membres du jury de thèse d'avoir accepté d'évaluer mon travail, merci donc aux deux rapporteurs, Patricia Gibert et Philippe Vernon, et aux deux examinateurs, Joan van Baaren et Sylvain Pincebourde.

Les piou-piou (stagiaires/sbires comme diraient certains). Tout ce travail effectué… ça n'aurait pas été possible sans vous ! J'espère que le petit récapitulatif des différentes mesures réalisées au cours de la thèse rend compte du super boulot que vous avez fait, toujours dans la bonne humeur. Par ordre chronologique, merci déjà à Karolina d'avoir été là pour le début de la thèse, on en a bavé avec ces premières manips et je n'imagine même pas comment cela aurait pu être possible sans toi ! Je ne dirai rien sur ta tendance à ouvrir les autoclaves alors que c'est interdit (hihi), ni sur le fait que tu as préféré le stage avec moi que celui avec Chloé (ça sera notre petit secret). Merci Karolina pour ta bonne humeur, ton altruisme et ce soutien indéfectible apporté pendant des périodes assez difficiles. J'en viens à la cuvée 2017. Merci à Romaric pour son humour (Cythiaaaaaa envie d'un appart, le Roumain qui se tire sur l'élastique dans le bar, ou encore « La résilience ? Ouaiiiiiiiis ! ») et ses quelques parties sur la Ligue des Légendes (pas merci d'être un main Veigar par contre). Merci à Alann, mon fidèle scribe pendant les prélèvements d'hémolymphe, pour avoir participé à cette bonne ambiance. Toujours un plaisir de te recroiser dans les couloirs du labo ! Merci à Paul, notre dessinateur de génie (j'ai gardé les dessins !). Toujours dans le monde des artistes, merci à Laurène pour sa super reconstitution de la photo des stagiaires 2018, qui trône fièrement dans l'insecterie du 4ème (j'aime bien mon déguisement en Link, je m'en sors pas si mal, comparé à d'autres (coucou Hugo)). Merci à Ruddy, notre bricoleur et gars fiable, pour avoir installé le tableau dans l'insecterie (il tient encore, bien évidemment). Toujours pour les stagiaires du cru 2017, merci à Romain pour son inventivité ! Ensuite, merci à Corentin (aka Coco Jr), mon acolyte de la Coco Team, ça a toujours été un plaisir de bosser avec toi. J'ai appris beaucoup de choses grâce à ta maîtrise légendaire des Internets : merci d'avoir agrandi ma connaissance mémistique (it ain't much, but it's honnest work !), merci de m'avoir fait découvrir ce joyeux personnage qu'est mistermv et toute se ribambelle de répliques toutes plus incroyables les unes que les autres (« What a randaaaam ! », « C'est pour vous que j'le fais, pas pour moi hein »), et encore merci pour ces nombreuses autres découvertes de toutes ces autres pépites, incluant « Excepté une fois au chalet », le Hoffmann de ses morts, ou encore les conseils castagne de Johny Cadillac (bac +30 en médecine spécialité circulation du sang dans les pores de la peau). Merci d'avoir toléré ces playlists « Best 500 Zelda songs », « Sound of Hyrule » ou encore « Calm and relaxing Zelda music » pendant plusieurs heures de temps. Je remercie aussi les stagiaires du cru été 2018. Merci à Hugo, l'entreteneur d'à peu près tous les espaces verts du bâtiment Gabriel pendant la période estivale (je n'oublierai pas ta rencontre et cette chaleureuse poignée de main avec François-Xavier). Par contre, je ne te remercie pas de jouer Olaf sur la Ligue. Aucun carry ad qui se respecte ne te remercierait pour ça. Merci à Léa d'être originaire de la plus belle région du monde (j'ai dit région, pas département, faut pas s'enjailler non plus), d'être née le meilleur jour de l'année (team 1er Août rpz). Dommage pour tes goûts en termes d'apéro et tes mélanges Pontarlier/violette du démon quoi (c'est interdit par la fédé de l'apéro normalement) 😉 Merci à Loïc pour sa motivation inconditionnelle pendant les manips et pour ces petites discussions nocturnes en revenant du bar (où chacun prenait une boisson convenable, sauf Léa, qui commandait un Pontarlier-violette bien évidemment). Merci à Elisa d'avoir supporté toutes ces piqûres de chenilles en mon absence. Merci à Sam pour les deux stages et pour toutes ces (re)découvertes musicales que je ne préfère pas mentionner dans un souci de dignité (il y en a qui ont la bombe nucléaire comme arme ultime, nous on a notre playlist du hit parade 2008). Bon par contre désolé mais les Pokémons insecte c'est un peu tout pourri, vive le type plante ! Re-merci à Coco Jr pour le deuxième stage effectué chez nous, avoir resigné avec nous ça relève du masochisme mais, comme tu le dis si bien, c'est pour le travail. Alors si c'est pour le travail… Merci à Gui' pour ses discussions enflammées autour de l'accent alsacien : les manalaaas, les maneuleus… je suis bilingue maintenant ! Regarde : « Yo ! Kopfterami mets donc tes schlops, va à la boulangerie et achète des manalaaas ». Surprenant hein ? Si tu le prends mal, je te répondrai simplement, en te tendant la

main droite : « Ecoute c'est une connerie on va pas se bagarrer pour ça ». Et allez le Racing ! (Ils en ont besoin en ce moment).

Les compagnons d'escapades vidéoludiques. J'en profite pour remercier ceux qui connaissent les démons qui hantent l'esprit tourmenté de Cocornitho. En particulier, merci donc à Olivier « Grovier » Iltis (j'y reviendrai), Charles « Darug » Nicolas, Corentin « TontonBoby » Nicod et Xavier « Mostarius/Mosta/MostaduConnemara/BoutefeuChinois/Ponga Ra » Goux (pour nous, tu resteras Mosta, ou Feedsta quand t'arrives pour gank avec ton Gragas et le flash de up, on sait tous comment ça finit cette histoire hein 😉). Merci à vous les gars d'avoir toléré, avec une consternation plus ou moins dissimulée, mon comportement quelque peu acariâtre sur la Ligue des Légendes (big up à Darug et sa Nami en 0/0/4, qui se mue en professeur de yoga spécialité conseiller d'orientation/coach de fitness quand je suis déjà en 2/13/4 en train de splitpush avec Zoé machine gun parce que le jungler ennemi il est pas venu gank une seule fois au bot gneugneugneu). Ça m'a toujours fait plaisir de jouer avec vous (bon, ça c'est peut-être pas toujours vu), mais ça me changeait les idées et j'espère vous recroisez sur la faille de l'invocateur dans des jours plus heureux (quand Darius, Warwick et Pyke auront été balancés dans les flammes de la montagne du destin en même temps que ce foutu anneau, par exemple) ! J'en profite aussi pour remercier Nils et Jojo pour ces parties endiablées de JDR en ligne (Bernard Larnaque rpz) à 4 avec Charles. Toujours en parlant de compagnons vidéoludiques, dans un tout autre registre, je remercie Link, Zelda, Mipha, Daruk, Urbosa, Revali, Tressa, Olberic, Primrose, Alfyn, Therion, H'aanit, Ophilia, Cyrus, Phoenix Wright (et ce bon vieux Dick Tektiv), Spyro, sans oublier les quelques 890 Pokémons (allez c'est la fête) pour toutes ces parties de jeu et moments d'évasion ! C'est quand je me rends compte que je me mets à remercier des personnages de jeux vidéo que je me dis que les 3 années de thèse ne m'ont pas laissé indemne !

Bon j'ai presque fait le tour. Il me reste, toutefois, encore quelques personnes à remercier. Si la Triforce régit l'ordre en Hyrule, j'ai moi aussi ma Triforce de l'amitié qui m'a permis de vaincre le boss final de ces 3 années de doctorat : Thèsondorf (olala, il est temps que ces remerciements se terminent…).

Julien. J'allais quand même pas oublier mon deuxième gars du Nord préféré, après Mathieu Debuchy bien évidemment (aïe mes dents !!!). Dans la Triforce de l'amitié (oui, je persiste avec cette métaphore naze), tu représentes la force : la force des convictions, la force de caractère, la force de bourrer la tronche à un supporter du LOSC perdu à Bollaert. Merci pour ta bonhommie, ta franchise, et ton optimisme inconditionnels. Je garde un excellent souvenir des séances visionnage des résumés des matchs de Lens au labo, des bavettes (ils vont faire faillite maintenant), et de tout ton argumentaire déployé pour me faire acheter la 3DS (ça a fini par marcher, j'ai même pris la Switch !). Merci de me secouer (au sens propre comme au sens figuré) de temps à autre, ton énergie est contagieuse ! Merci pour ces escapades bien sympas dans le Nord, à boire une bière, manger un welsh (avec une bière), allez au stade (avec une bière), boire une bière, aller chez papy et boire une vodka (après une bière et évidemment un verre de Bourgogne, le Bordeaux c'est bon pour l'évier hein !), danser la polka, boire une bière, aller manger moules frites à Wimereux, boire une bière pour faire passer tout ça… Pas le temps de s'ennuyer ! Je n'oublie pas ces parties endiablées de Smash en ligne, à casser en deux du n00b qui joue le Héros (les enfoirés). Enfin, c'était plus souvent l'inverse qui se produisait, mais nous ne nous étalerons pas là-dessus. Merci pour le Parc Astérix, c'était trop cool (j'ai quand même bien flippé ma race, mon amour propre a pris un coup dans le bateau pirate quand j'ai dû fermer les yeux parce que j'avais trop peur alors que le gamin de 10 ans derrière s'éclatait comme un fou). Merci de m'avoir fait découvrir tous ces supers jeux de société comme le blanc manger Coco (pour la libération des otages, les terroristes ont exigé une thèse sur la

pluripotence des cellules souches). Merci pour cet accueil royal à chaque fois dans le Nord. Merci de me laisser aller devant dans la voiture (dit autrement, merci de refuser que ta banquette arrière et l'autre passager derrière soient couverts de vomi). En parlant de mon accueil dans le Nord, je tiens aussi à remercier Gaëlle pour son hospitalité et pour avoir cerné, très rapidement, tout mon génie humoristique (vous voulez du pâté à la louche ? Ah non au couteau, c'est mieux !). Merci pour tous ces bons petits plats préparés, je retiens la recette pour les carbonaras ! Merci aussi à Nico pour m'avoir hébergé à plusieurs reprises et m'avoir fait découvrir la campagne aux alentours de Nevers (je sais maintenant que je peux emmener ma copine à Apremont-sur-Allier et que NRJ approuvera complètement). En parlant de NRJ, merci d'avoir fait de moi la star et d'avoir permis de susciter tellement de vocations parmi les lycéens nivernais, aujourd'hui tous en étude à Dijon grâce à mes précieux conseils (c'est sympa Dijon, vous pouvez manger des pizzas). Merci pour ces parties à Fifa. Tout bien réfléchi, pas merci de m'avoir défoncé à Fifa. Merci à Sylvain pour cette visite touristique de Lille, c'était très sympa ! Je remercie également Valérie et Thierry pour leur hospitalité, tous ces excellents moments passés en leur compagnie, et pour, je cite, « Prendre 3 racailles tous les matins au petit-déjeuner » (J. Dhinaut, 2018).

Olivier. Le Courage de la Triforce ! Parce qu'il en faut, du courage, pour traverser les rues de Dijon avec la casquette à hélices de Riri sur la tête. Il en faut, du courage, pour monter avec Marie-Chantal dans la voiture, lors des fins de soirée trop arrosées. Il en faut, du courage pour lancer une ranked à 15h un mercredi, quand Bastien est en train de siroter son thé devant son générateur de matchmaking (tiens tiens, Grovier qui lance une game, ça tombe bien j'ai un main Yasuo qui reste sur 8 games en 2/15 et qui veut justement jouer hinhinhin). Evidemment, les bons moments passés avec toi remontent à bien avant ces trois dernières années. Mais je retiendrai de celles-ci les moultes péripéties nocturnes de notre triplette avec Charly. Quel bar de Dijon nous est encore inconnu ? (j'ai entendu parler d'un nouveau petit bar, je crois que ça s'appelle le *Between Two Worlds* ou un truc comme ça, ça a l'air bien sympa et pas trop cher). L'Antre (kek), le Cosmos, les Berthoms, le Beer, le Café de l'Indus', le Iench Bleu, le King's Tavern, le Barbarians (et ses dérivées olfactives), sans oublier le Angie (et son fameux « Burger du chef »)… tellement d'endroits et de bons souvenirs ! Bien sûr, ce bon Bastien s'occupait de laisser un petit clou rouillé sur notre chaise, de vider le fût de Faro dans l'évier (quel dommage, on en a plus :^)), ou encore de veiller à ce que la table d'à côté ait bien soif et faim quand on allait à l'Antre, mais il ne sera jamais parvenu à empêcher la réussite de ces réunions hebdomadaires. Ce sont, sans aucune hésitation, les meilleurs souvenirs de mon passage à Dijon, et c'est en bonne partie grâce à toi. Merci pour ton humour génialissime et tes talents de mime et d'imitateur (big up à la posture de « l'homme qui fait garer les voitures », à l'imitation du Ludo, à la malaisance incarnée face à NoPants). Merci pour ton entrain à toute épreuve, je ne sais pas si tu as déjà refusé une sortie sous un prétexte autre qu'une séance pressage de jus de pomme (prétexte tout à fait acceptable, il y a des priorités dans la vie). S'il y a bien une autre chose qui me plaît, ce sont nos virées à Belfort : regarder d'un air interrogateur et insistant les gens qu'on double sur l'autoroute (la Marc attitude), allez rendre visite à la Mamy (et profitez de sa connexion à la fibre pour des parties endiablées sur la Ligue des Légendes), reprendre du dessert (sous réserve que ledit dessert soit une spécialité glacée concoctée par une personne dont nous connaissons tous deux l'identité), être réveillés dans la nuit par quelqu'un qui s'arrête sur le coin de la route pour vomir chez le carrossier d'en face (probablement pour avoir abusé de ce fameux vacherin), aller faire tourner le One Shot (ouahou tu es si fort sur Zilean Cocornitho !*slurpslurp*), aller voir le Marcel (et son jeu de tête légendaire à PES)… Pourvu que tout ça perdure !

Charly. Comme Zelda, je vais t'associer à la Sagesse bien sûr ! La sagesse, pour toutes tes connaissances et pour toutes ces discussions passionnantes à côté d'une bonne pinte de Faro, d'IPA (de la Big Job, bien évidemment !), ou de bière de Noël. Que dire, si ce n'est que t'as été mon acolyte

(pour ne pas dire mon alter ego) ces 3 dernières années ? Comment envisager une journée au labo sans nos pauses café de 10h et 15h, que ce soit pour regarder les résumés de la Ligue 1 (avec bien souvent une nouvelle victoire du DFCO), pour s'improviser scouts (en repérant les futurs talents de demain à partir d'un résumé YouTube bouteillé de joueurs évoluant en 3ème division malgache), ou encore pour confronter nos hypothèses de la position du dreadeux sur un terrain de foot (team Jason Denayer ou Loïc Rémy). Je n'oublie pas non plus les vidéos de Wiloo (« Pourquoi faut-il suivre Grenade cette saison ? »), les commentaires Eurosport après un article sur Neymar (les punchlines entre viscaelbarçadu22 et flohalamadriddu47), ou encore les prédictions de Martin Mosnier en termes de mercato estival (Neymar à Dijon en échange de Tavarès ? Note avis : On y croit moyen mais dans le foot tout est possible). Entre ces pauses café, je n'oublie pas nos passages chez le « Petit Chef » avec le reste de la crew (ainsi que Swagman, Christine Purée, le mec au casque), pour déguster un poulet Gaston Gérard qui vaut bien 40 €, du poisson à la dieppoise, du riz à la créole ou encore le non moins traditionnel bœuf à la malgache. Et que dire de nos activités en dehors du labo ? Merci pour toutes ces virées avec Grovier, la sainte Trinité « Café de l'Indus'/Acqua e farina/Iench bleu), je n'oublie pas le Barbarian's (et je n'oublierai pas certains Barbarian's non plus !). Merci de m'avoir fait découvrir les meilleures pizzas de Dijon. J'ai énormément apprécié les très nombreuses discussions qu'on a pu avoir, que ça soit d'un point de vue footballistique (devant un bon match de Pool au Barbarian's), sur les jeux vidéo, le cinéma, la cuisine, tout et n'importe quoi, et bien sûr la dégustation de vin (même s'il a parfois fini sur les godasses de Christine Louboutin). Ton esprit vif, ta culture et ton ouverture d'esprit… les discussions avec toi ne peuvent qu'être constructives et enrichissantes (avant que je te connaisse, j'étais encore de la team cordon bleu Père Dodu goût kebab, c'est dire !). En parlant de cuisine, merci pour toutes ces virées au « Chémar » le samedi matin (je crois que ton verlan m'a toujours fait beaucoup marrer, surtout « Toncar »). C'était l'occasion de tester des plats avec toujours de la réussite (big up au gratin de potimarron ou butternut, une valeur sûre). Et d'enchaîner avec un peu de Smash pour spammer le Falcon Punch du Captain Falcon rose (ou alors un petit DK blanc des familles). Merci aussi pour ces supers moments passés en colloque à Naples, c'était le top, parmi mes meilleurs souvenirs des 3 années de thèse (même si on connaît tous les deux la vraie nature des Italiens grâce au fameux client d'Acqua e farina). Et au moins, ça nous a permis de jouer les experts en disant que les pizzas de l'Acqua e farina sont les plus proches du style Napolitain. Merci aussi pour ce Nouvel An génial, à jouer à Smash, manger un Mont d'or, et finir par une dégustation de Calva pour « remettre le facteur sur le vélo » comme tu le dis si bien. J'en profite aussi pour remercier Manon de nous avoir rejoint dans ces escapades dijonnaises, c'était toujours un plaisir de t'avoir avec nous (et merci, c'est grâce à toi et par l'intermédiaire de Charly que j'ai découvert Octopath Traveler 😉). Voilà, je ne dirais pas que j'ai fait le tour, c'est un petit échantillon de tous les excellents moments passés ensemble (et il y en aura d'autres !). Tout simplement, merci pour tout mon bro !

Ce travail de thèse a nécessité :

. 21 320 chenilles récoltées individuellement

. 6 158 pesées de chenilles et chrysalides

. 1 320 mesures de longueur de capsule céphalique

. 2 185 prélèvements immunitaires

. 1 684 accouplements de papillons

. 1 072 suivis individuels de ponte

. 1 396 mesures de surface des œufs

. 244 dissections de spermatophore

. 404 mesures de comportement sexuel

. 913 mesures de longueur de tibia de trichogramme

. 529 suivis individuels de longévité

. 767 dosages énergétiques

« L'homme est la seule créature qui refuse d'être ce qu'elle est. »

Albert Camus, L'Homme révolté (1951)

À la mémoire de mes grands-pères, Pierre et René,

et à leur insatiable passion pour la vie sauvage.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé des communications scientifiques 1

Chapitre I : Introduction générale 3

Avant-propos.....4

1. Le réchauffement climatique, un phénomène complexe aux facettes multiples..6
2. De l'intérêt porté au changement climatique en écologie : effets du réchauffement sur différents niveaux d'organisation du vivant.....13
3. De la climatologie à l'écologie : comment est conceptualisé le réchauffement climatique dans les études en écologie ?.....22
4. Présentation de la thèse : impacts du réchauffement climatique sur la performance d'un ravageur de la vigne et conséquences pour les relations tritrophiques 30

Chapitre II : Matériel et méthodes général.....35

1. Modèle biologique.....36
2. Conditions d'élevage et méthode de récolte des individus.....47
3. Régimes thermiques 48
4. Mesures des traits d'histoire de vie du ravageur.....53

Chapitre III : Cas des régimes constants : réponse du système défensif des chenilles à une augmentation de température moyenne 66

Contexte général du chapitre et objectifs 67

Manuscrit 1 : *When warmer means weaker: high temperatures reduce behavioural and immune defences of the larvae of a major grapevine pest*. ..70

Conclusions majeures du chapitre 83

Chapitre IV : Cas des régimes fluctuants et modélisation climatique : réponse du ravageur et de son interaction avec un parasitoïde oophage à une imitation locale du réchauffement climatique.....85

Contexte général du chapitre et objectifs 86

Manuscrit 2 : *Are life history traits equally affected by global warming? A case study combining multi-trait approach with fine grain climate modeling* 90

Manuscrit 3 : *Warming adversely affects the reproductive performance of both sexes in the major grapevine pest* Lobesia botrana 101

Manuscrit 4 : *Where you come from matters: temperature influences host-parasitoid interaction through parental effects*.....131

Conclusions majeures du chapitre 158

Chapitre V : Cas des événements extrêmes : réponse des chenilles à une vague de chaleur survenant à différentes étapes du développement 164

Contexte général du chapitre et objectifs 165

Manuscrit 5 : *Does nutrition matter in the response of an herbivorous insect to a heat wave? A stage-specific approach*.....168

Conclusions majeures du chapitre 209

Chapitre VI : Discussion générale.....210

1. Comment le réchauffement climatique pourrait-il impacter les populations d'eudémis dans le contexte des réseaux tritrophiques ?.....213
2. Perspectives de recherche futures pour une meilleure compréhension des conséquences du réchauffement sur les ravageurs : l'exemple d'eudémis 224
3. Conclusion générale 233

Références bibliographiques 235

Annexes.....264

Manuscrit 6 : *Biological protection against grape berry moths. A review.* 266

Manuscrit 7 : *The curse of being single: both male and female* Gammarus pulex *benefit energetically from precopulatory mate guarding.* 285

Manuscrit 8 : *Parasitism may alter functional response comparisons: a case study on the killer shrimp* Dikerogammarus villosus *and two non-invasive gammarids.* 292

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Le réchauffement climatique : observations, causes et mécanisme explicatif..... 7
Figure 2 : Modélisation de différentes trajectoires futures de la température globale moyenne à la surface de la Terre 10
Figure 3 : Schéma simplifié représentant les effets en cascade du réchauffement climatique sur les différents niveaux d'organisation du vivant parmi les plus étudiés en écologie 15
Figure 4 : La courbe de performance thermique prédit comment la température de l'environnement peut affecter l'expression d'un trait relié à la performance chez un ectotherme (réponse thermique au niveau individuel) 18
Figure 5 : Deux exemples illustratifs de la variabilité naturelle de températures que peuvent rencontrer les organismes dans leur environnement 24
Figure 6 : Les effets des fluctuations thermiques sur la performance des ectothermes sont dépendants tout autant de leur magnitude que de la température moyenne autour de laquelle cette variabilité thermique s'opère 27
Figure 7 : Les différentes voies d'action de la température sur l'eudémis (*L. botrana*) dans le contexte écologique des réseaux tritrophiques 31
Figure 8 : Photographies de trois stades de vie d'eudémis (*L. botrana*)..... 36
Figure 9 : Photographies des extrémités abdominales d'une femelle et d'un mâle chez l'eudémis (*L. botrana*) 37
Figure 10 : Distribution d'eudémis (*L. botrana)* à l'échelle mondiale et à l'échelle nationale 38
Figure 11 : Cycle biologique annuel d'eudémis (*L. botrana*)..... 39
Figure 12 : Photographies illustratives des dégâts que peuvent engendrer les larves d'eudémis (*L. botrana*) dans les vignes 40
Figure 13 : Photographies de différents parasitoïdes d'eudémis (*L. botrana*) présents naturellement dans les vignobles 44
Figure 14 : Photographies d'une femelle d'eudémis (*L. botrana*) en position d'appel, observée en milieu naturel et au laboratoire sous lumière rouge 46
Figure 15 : Photographie d'une cage d'accouplement pour adultes d'eudémis (*L. botrana*) 47

Figure 16 : Principe de la modélisation climatique avec méthode de « *dynamical downscaling* » utilisée pour conjecturer l'évolution des climats à une échelle régionale/locale 51
Figure 17 : Cycles thermiques journaliers des deux régimes fluctuants utilisés dans le Chapitre IV..... 52
Figure 18 : Photographies illustratives des trois mesures comportementales réalisées 55
Figure 19 : Photographies illustratives des deux mesures immunologiques réalisées 57
Figure 20 : Schéma récapitulatif de la procédure générale utilisée lors des dosages par spectrophotométrie des réserves énergétiques des chenilles ou papillons d'eudémis (*L. botrana*)..... 59
Figure 21 : Photographie d'un accouplement d'eudémis (*L. botrana*) 61
Figure 22 : Photographies de la paroi d'un tube d'œufs d'eudémis (*L. botrana*) et d'œufs de L. botrana à différents stades 62
Figure 23 : Photographies d'un spermatophore de mâle d'eudémis (*L. botrana*) à l'intérieur de la bourse copulatrice de la femelle..... 63
Figure 24 : Photographie du contenu d'un spermatophore de mâle d'eudémis (*L. botrana*) 65
Figure 25 : Schéma récapitulatif des principaux résultats du Chapitre III (Manuscrit 1) 84
Figure 26 : Schéma du design expérimental mis en œuvre dans le Manuscrit 4 du Chapitre IV..... 89
Figure 27 : Schéma récapitulatif des principaux résultats du Manuscrit 2 du Chapitre IV 160
Figure 28 : Schéma récapitulatif du design expérimental mis en œuvre dans le Manuscrit 5 du Chapitre V, avec les huit modalités résultant de la combinaison de trois facteurs expérimentaux (traitement thermique, stade larvaire, et traitement alimentaire).....167
Tableau 1 : Résumé synthétique des résultats obtenus avec différentes méthodes d'imitation du réchauffement climatique au cours de la thèse 212

Résumé des communications scientifiques

Articles scientifiques

- **Article 1 (présenté dans le Chapitre III)**
  Iltis, C., Martel, G., Thiéry, D., Moreau, J. and Louâpre, P. (2018). When warmer means weaker: high temperatures reduce behavioural and immune defences of the larvae of a major grapevine pest. *Journal of Pest Science* 91, 1315–1326.
- **Article 2 (présenté dans le Chapitre IV)**
  Iltis, C., Louâpre, P., Pecharová, K., Thiéry, D., Zito, S., Bois, B. and Moreau, J. (2019) Are life-history traits equally affected by global warming? A case study combining multi-trait approach with fine-grain climate modeling. *Journal of Insect Physiology* 117, 103916.
- **Article 3 (présenté dans le Chapitre IV)**
  Iltis, C., Moreau, J., Pecharová, K., Thiéry, D. and Louâpre, P. Warming adversely affects the reproductive performance of both sexes in the major grapevine pest *Lobesia botrana*. *Journal of Pest Science* (Major revisions)
- **Article 4 (présenté dans le Chapitre IV)**
  Iltis, C., Moreau, J., Manière, C., Thiéry, D., Delbac, L. and Louâpre, P. Where you come from matters: temperature influences host-parasitoid interaction through parental effects. *Oecologia* (Minor revisions)
- **Article 5 (présenté dans le Chapitre V)**
  Iltis, C., Louâpre, P., Thiéry, D. and Moreau, J. Does nutrition matter in the response of an herbivorous insect to a heat wave? A stage-specific approach. *Journal of Experimental Biology* (Submitted).
- **Article 6 (présenté en Annexes)**
  Thiéry, D., Louâpre, P., Muneret, L., Rusch, A., Sentenac, G., Vogelweith, F., Iltis, C. and Moreau, J. (2018) Biological protection against grape berry moths. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 38, 15.
- **Article 7 (présenté en Annexes)**
  Iltis, C., Spataro, T., Wattier, R. and Médoc, V. (2018) Parasitism may alter functional response comparisons: a case study on the killer shrimp *Dikerogammarus villosus* and two non-invasive gammarids. *Biological Invasions.* 20, 619–632.

- **Article 8 (présenté en Annexes)**
  Iltis, C., Dechaume-Moncharmont, F-X., Galipaud, M., Moreau, J., Bollache, L. and Louâpre, P. (2017) The curse of being single: both male and female *Gammarus pulex* benefit energetically from precopulatory mate guarding. *Animal Behaviour* 130, 67–72.

Communications orales et affichées au cours de congrès scientifiques

- Iltis, C., Louâpre, P., Manière, C., Pecharová, K., Thiéry, D. and Moreau, J. (2019) Impacts of climate change on the performance of a major grapevine pest and consequences for its interaction with an oophagous parasitoid. Séminaire invité, Louvain-la-Neuve (Belgique). Communication orale.
- Iltis, C., Moreau, J., Thiéry, D. and Louâpre, P. (2018) Effets du réchauffement climatique sur la performance d'un lépidoptère ravageur de la vigne : un cas d'étude avec des modèles climatiques. *Adaptation à l'environnement biotique chez les Lépidoptères (ADALEP),* Sophia-Antipolis (France). Communication orale.
- Louâpre, P., Iltis, C., Manière, C. and Moreau, J. (2018) Comment les interactions entre lépidoptères et parasitoïdes oophages peuvent-elles évoluer dans le contexte du réchauffement climatique ? *Adaptation à l'environnement biotique chez les Lépidoptères (ADALEP),* Sophia-Antipolis (France). Communication orale.
- Iltis, C., Moreau, J., Thiéry, D. and Louâpre, P. (2018) Is hotter better for a Mediterranean pest? A case study with an experimental imitation of global warming based on climate modelling. *The XI European Congress of Entomology (ECE),* Naples (Italie). Communication orale.
- Iltis, C., Moreau, J., Thiéry, D. and Louâpre, P. (2017) Global warming and defences against natural enemies: more avoidance, less resistance? *The 5th International Entomophagous Insects Conference (IEIC5),* Kyoto (Japon). Communication orale.
- Iltis, C., Louâpre, P., Thiéry, D. and Moreau, J. (2017) Surviving in a warming world: mean temperature and fluctuations differently impact the defensive traits of a global grapevine pest. *The 5th International Entomophagous Insects Conference (IEIC5),* Kyoto (Japon). Communication affichée.

Chapitre I

Introduction général

AVANT-PROPOS

Le réchauffement climatique ne fait à ce jour plus aucun doute, tout comme ses conséquences avérées sur les différents niveaux hiérarchiques du vivant (individus, populations, espèces, communautés, écosystèmes…). Cette thèse se focalise sur les modifications thermiques comme principales altérations de l'environnement abiotique induites par le changement climatique, bien que ce dernier s'accompagne également d'une augmentation de la concentration atmosphérique en dioxyde de carbone, de perturbations des régimes de précipitations, ou encore d'intensification du rayonnement ultraviolet, tous susceptibles de profondément affecter les organismes vivants et leurs interactions.

Les études d'impact portant sur les conséquences écologiques du réchauffement climatique font aujourd'hui face à un enjeu d'importance primordiale : parvenir à anticiper la manière dont les individus, populations, espèces et leurs interactions peuvent réagir à des changements brutaux survenant dans leur environnement thermique. Les dimensions d'un tel enjeu sont perceptibles en considérant l'exemple des insectes ravageurs des cultures, aujourd'hui responsables de pertes chiffrées à 20% de la production agricole planétaire. Dans le contexte d'une démographie mondiale de nature exponentielle, prédire la manière dont les abondances des populations de ravageurs peuvent évoluer en réponse au réchauffement revêt une importance d'ordre scientifique, économique et sociétale majeure.

De telles prédictions en termes de dynamique populationnelle peuvent être dérivées de l'étude de la réponse thermique observée au niveau individuel (traits d'histoire de vie des ravageurs). Ainsi, les modèles prédictifs de la dynamique d'abondance des ravageurs reposent bien souvent sur une base mécanistique acquise de manière empirique, par voie expérimentale, en comparant la performance individuelle des ravageurs sous différents régimes thermiques représentatifs des conditions actuelles et futures en un lieu donné. La question inhérente à cette démarche intellectuelle est de savoir quels régimes thermiques appliquer à l'espèce d'intérêt, en d'autres termes comment simuler le réchauffement climatique par voie expérimentale. Trois méthodes de simulation, renvoyant à trois facettes différentes du

réchauffement, sont évoquées dans l'introduction de cette thèse (régimes constants, fluctuants, vague de chaleur).

Cette thèse constitue un cas d'étude des conséquences de ces différentes méthodes d'imitation expérimentale du réchauffement sur la performance d'un ravageur de la vigne, l'eudémis (*Lobesia botrana*). Elle conjugue un intérêt appliqué, en cherchant à affiner les capacités de prédiction relatives à la dynamique des populations futures de ce ravageur dans le contexte du changement climatique, et un intérêt plus fondamental, puisque les différents chapitres constitutifs de cette thèse vont chacun traiter une question scientifique nouvelle dans le cadre intellectuel du changement climatique. Ces différentes questions, et la résonance scientifique des résultats obtenus, sont présentés dans la description des chapitres de la thèse venant clôturer l'introduction.

1. LE RÉCHAUFFEMENT CLIMATIQUE, UN PHÉNOMÈNE COMPLEXE AUX MULTIPLES FACETTES

1.1. Une tendance globale largement acceptée : l'augmentation de la température moyenne à la surface de la planète

Bien loin d'une anodine anomalie conjecturelle, le réchauffement climatique s'impose aujourd'hui comme une inquiétante réalité scientifique. Les données climatiques historiques, collectées depuis le milieu du XIXème siècle, démontrent sans ambiguïté aucune une constante augmentation de la température moyenne à la surface de la Terre (Fig.1A). À l'échelle de la planète, le climat de l'atmosphère et des océans s'est en moyenne réchauffé de 0.85°C entre 1880 et 2012 (IPCC, 2014). Les causes et le mécanisme sous-jacents à ces perturbations climatiques sont bien identifiés. L'augmentation des températures est concomitante à une élévation des concentrations atmosphériques en différents gaz à effet de serre depuis l'ère préindustrielle (1750) jusqu'à nos jours, parmi lesquels les plus fortes hausses enregistrées concernent le dioxyde de carbone CO_2 (+40%), le méthane CH_4 (+150%) et le protoxyde d'azote N_2O (+20%) (Fig.1B) (IPCC, 2014; Karl and Trenberth, 2003; Lashof and Ahuja, 1990). Une telle augmentation de la teneur de l'air en ces différents composés, jusqu'à des valeurs jamais observées depuis au moins 800 000 ans, est la résultante d'émissions massives d'origine anthropique (IPCC, 2014; Karl and Trenberth, 2003; Lashof and Ahuja, 1990). Pour soutenir une activité économique prospère et une croissance démographique mondiale exponentielle, les activités humaines (combustion de carburants fossiles, processus industriels, production de ciment, exploitation des terres…) ont ainsi libéré près de 2040 milliards de tonnes de CO_2 dans l'atmosphère depuis 1750, dont 40% subsistent aujourd'hui dans l'air car n'ayant pas pu être stockés dans des réservoirs naturels de carbone tels que les océans, la biosphère ou les sédiments (IPCC, 2014). En piégeant une partie du rayonnement solaire entre l'atmosphère et la surface de la Terre, les gaz à effet de serre contribuent à augmenter le forçage radiatif (quantité d'énergie absorbée par unité de surface) du système climatique planétaire vers des valeurs nettement supérieures à zéro, conduisant ainsi à un réchauffement en surface (IPCC, 2014; Lashof and Ahuja, 1990) (Fig.1C).

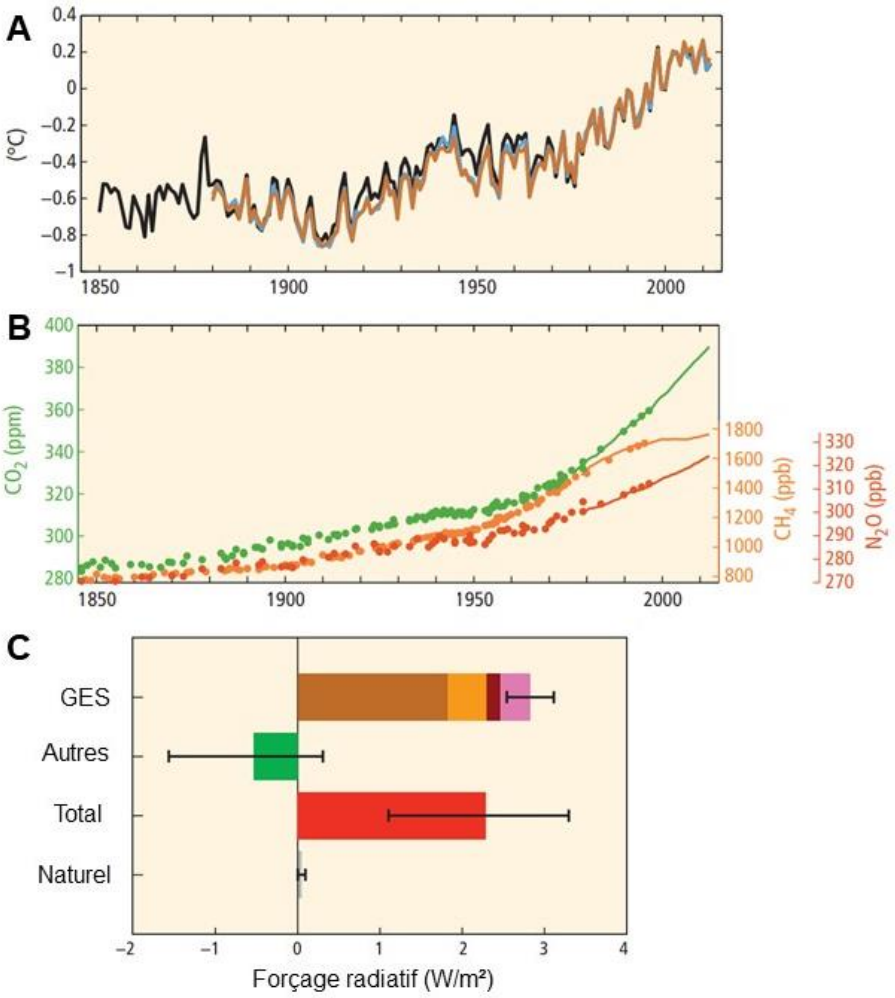


Figure 1 : *Le réchauffement climatique : observations, causes et mécanisme explicatif. A : À une échelle globale (planétaire), le réchauffement climatique se manifeste par une augmentation de la température moyenne à la surface de la Terre depuis le milieu du XIXème siècle. La courbe représente les anomalies de température moyenne annuelle de l'atmosphère et des océans regroupés par rapport à la période 1986-2005, choisie comme référence. Les anomalies avant cette période sont uniquement négatives, indiquant des températures globales moyennes plus faibles par le passé. B : La cause majeure de cette hausse des températures est identifiée : c'est une augmentation des concentrations atmosphériques en gaz à effet de serre, consécutive aux activités humaines entreprises depuis la révolution industrielle. En outre, trois composés majeurs sont impliqués : le dioxyde de carbone (CO_2), le méthane (CH_4) et le protoxyde d'azote (N_2O). C : D'un point de vue mécanistique, le réchauffement résulte d'un forçage radiatif (énergie solaire absorbée par unité de surface) très nettement positif à la surface de la Terre. Les histogrammes représentent la différence de forçage radiatif entre 2011 et 1750, les barres associées renvoient à l'intervalle de confiance à 90% de cette différence. Les gaz à effet de serre (GES) sont les principaux responsables de l'augmentation du forçage radiatif vers des valeurs anormalement positives (marron : CO_2, orange : CH_4, grenat : N_2O, rose : halocarbones). Les autres facteurs de changement d'origine anthropique (aérosols, réflectance des surface cultivées), de même que les facteurs naturels (cycle solaire, volcanisme) ne jouent qu'un rôle mineur, voire nul, dans cette augmentation du forçage radiatif. Modifié d'après le dernier rapport de l'Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (2014).*

Au-delà d'un pattern généralisé d'une augmentation de température globale moyenne, perceptible à l'échelle planétaire et sur plusieurs décennies, les observations à une échelle spatio-temporelle plus fine permettent de visualiser un certain niveau de complexité dans les manifestations du réchauffement climatique au niveau des climats et leur température moyenne. Dans l'espace tout d'abord, l'intensité du réchauffement est loin d'être homogène à la surface du globe. Un contraste peut être détecté selon un gradient latitudinal, opposant les hautes latitudes (particulièrement au Nord, où l'augmentation de température moyenne, pouvant atteindre +2°C sur la période 1901-2012, est la plus forte depuis le début du XXème siècle) aux tropiques (où elle est beaucoup plus modérée, bien souvent inférieure à +0.8°C sur la même période) (Hansen et al., 2006; IPCC, 2014; Lean and Rind, 2009). Ces différences peuvent s'expliquer par une perturbation de la circulation des masses d'air, donc de la distribution d'énergie thermique et d'humidité atmosphérique, entre l'équateur et les pôles (Seidel et al., 2008). Dans le temps, une part importante de variabilité dans le degré d'augmentation des températures est susceptible d'être observée entre décennies. Outre le rôle joué par des événements stochastiques comme des phénomènes météorologiques de grande ampleur (Collins et al., 2010), il semble exister une tendance directionnelle à un réchauffement de plus en plus intense au fil des dernières dizaines d'années (Hansen et al., 2006; IPCC, 2014; Jones et al., 1999). À ce titre, les trois décennies de la période 1983-2012 ont été les plus chaudes jamais enregistrées depuis 1850 dans l'hémisphère Nord, tandis que les émissions anthropogéniques de CO_2 pendant la décennie 2000-2010 ont été les plus importantes de l'histoire de l'humanité (IPCC, 2014).

Ces tendances récentes à un réchauffement de plus en plus intense questionnent sur le futur des températures à la surface du globe, notamment les prédictions pouvant être formulées pour la fin du siècle actuel. De telles prédictions sont produites grâce au recours à la modélisation climatique, permettant de simuler l'évolution potentielle future d'un système climatique à partir de lois physiques régissant les échanges d'énergie thermique à une échelle spatio-temporelle donnée (pour le principe de la modélisation climatique, voir la section 3.2. du Chapitre II ci-dessous). Dans cette optique, différentes trajectoires de température globale moyenne sont envisagées, en fonction du scénario socio-économique considéré pour inférer les émissions futures de gaz à effet de serre (IPCC, 2014; Meinshausen et al., 2009;

Meinshausen et al., 2011). Ces scénarios, au nombre de quatre, sont développés de manière à envisager différentes perceptions de l'action future de l'Homme sur le climat, selon un gradient variant entre l'optimisme et le pessimisme quant à l'évolution des concentrations atmosphériques en gaz à effet de serre (IPCC, 2014). Les quatre scénarios se distinguent par leurs prédictions en termes de développement humain (croissance économique et démographique) et de choix sociétaux (décisions politiques vis-à-vis du climat, changements associés en termes d'utilisation de l'énergie et d'exploitation des terres…), qui sont aujourd'hui encore fondamentalement incertains (IPCC, 2014). Ces considérations humaines et sociétales permettent d'envisager différentes trajectoires pour les émissions futures de gaz à effet de serre, lesquelles sont ensuite incorporées dans un ensemble de modèles climatiques afin de générer des simulations visant à conjecturer l'évolution de température globale moyenne à la surface de la planète sur plusieurs décennies (IPCC, 2014; Meinshausen et al., 2009; Meinshausen et al., 2011). Une projection climatique est donc toujours relative à une conceptualisation de l'action future de l'Homme sur son climat, et est inévitablement associée à une part d'incertitude inhérente aux modèles climatiques utilisés, puisque ceux-ci ne visent pas à prédire avec précision mais plutôt à définir un intervalle des possibles pour le climat futur (Fig.2).

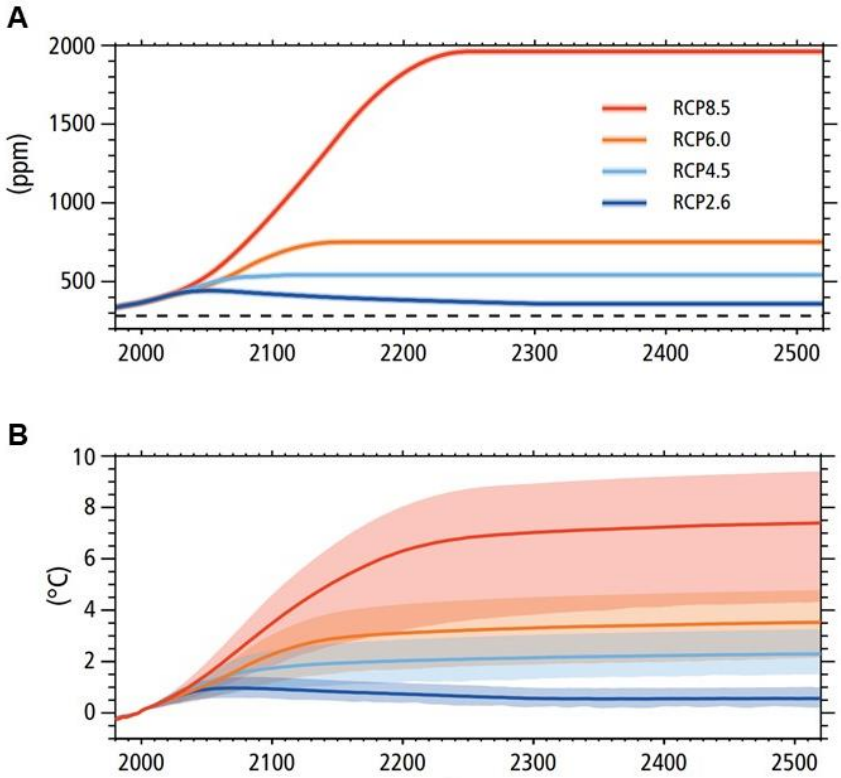


Figure 2 : *Modélisation de différentes trajectoires futures de la température globale moyenne à la surface de la Terre. A : Les prédictions dépendent du scénario considéré pour conjecturer les émissions futures de gaz à effet de serre, ici l'exemple de la concentration atmosphérique en CO_2. Ces scénarios, au nombre de quatre, intègrent des considérations sociétales, économiques et politiques pour prédire l'action future de l'Homme sur le climat. Le scénario le plus optimiste (RCP 2.6) prédit une rapide stabilisation de la teneur de l'air en CO_2, en lien avec des actions entreprises dans le but de maintenir le degré de réchauffement à moins de 2°C par rapport à la période préindustrielle. A contrario, le scénario le plus pessimiste (RCP 8.5) stipule une absence d'efforts pour contenir la libération massive de gaz à effet de serre, impliquant des émissions croissantes et une stabilisation beaucoup plus tardive de la concentration en CO_2 atmosphérique. B : Les trajectoires des concentrations futures en CO_2 atmosphérique sont ensuite incorporées dans des modèles climatiques permettant de simuler plusieurs évolutions futures de la température globale moyenne sur Terre. Les courbes représentent la différence de température globale moyenne prédite par rapport à la période 1986-2005 (les zones colorées autour des courbes matérialisent l'incertitude liée au modèle utilisé). Il est important de noter que plus la projection des températures se fait sur une échéance lointaine, plus les scénarios divergent dans leurs projections, en particulier le scénario RCP 8.5 par rapport aux trois autres. D'après les dernières simulations numériques du climat en date (basées sur l'utilisation de la génération de modèles climatiques la plus récente : CMIP6), l'augmentation de température globale moyenne d'ici 2100 pourrait dépasser le seuil des +7°C (scénario RCP 8.5), et se poursuivre pour les siècles suivants. Modifié d'après le dernier rapport de l'Intergovernmental Panel on Climate Change (2014).*

1.2. Des subtilités liées à l'échelle spatio-temporelle d'étude : modification de la variabilité des températures

Une autre facette du changement climatique est celle d'une modification de la variabilité des températures à différentes échelles de temps, dont deux seront mentionnées ici. La première échelle temporelle d'étude est intra-journalière, et fait référence aux fluctuations quotidiennes des températures. À cet égard, il a été démontré qu'en de nombreux points de la surface du globe, une manifestation tangible du réchauffement climatique est représentée par une altération de l'amplitude des fluctuations thermiques journalières (différence entre températures maximale et minimale journalières) (Braganza et al., 2004; Easterling et al., 1997; Karl et al., 1993; Wang and Dillon, 2014). Cette dernière peut ainsi conduire à une contraction (si la température minimale journalière augmente plus fortement que la température maximale) ou à un élargissement (dans le cas inverse) de l'amplitude des fluctuations thermiques quotidiennes (Easterling et al., 1997). Ces modifications thermiques sont la résultante de changements des caractéristiques physiques définissant un climat particulier, comme la couverture nuageuse, la teneur de l'atmosphère en aérosols, ou le refroidissement de surface dû aux précipitations (Easterling et al., 1997; Karl et al., 1993).

L'intérêt porté à la variabilité thermique intra-journalière comme métrique permettant de caractériser les conséquences du réchauffement sur les climats terrestres remonte aux années 1990. Les analyses, alors conduites avec des données compilées à une échelle mensuelle, révélaient une tendance globale à la diminution de l'amplitude thermique journalière dans de nombreuses localités du globe (Easterling et al., 1997). Toutefois, ces analyses ont été limitées par la discordance entre l'échelle temporelle à laquelle les données climatiques étaient collectées et le degré de précision requis pour mettre en exergue des changements se produisant à un niveau, particulièrement fin, de variabilité thermique à l'échelle d'une journée (Wang and Dillon, 2014). Plus récemment, l'augmentation de la résolution temporelle des analyses climatiques (intégration et traitement de données collectées à une fréquence quotidienne) a permis de nuancer les conclusions faites par les études antérieures, en démontrant qu'une augmentation de l'amplitude thermique journalière s'est produite dans plusieurs régions du monde, en particulier dans les zones polaires (en moyenne +1.4°C sur la période 1975-2013) et tempérées (+1.0°C sur la même période) (Wang

and Dillon, 2014). Ainsi, les patterns de réponse de l'amplitude thermique journalière au réchauffement climatique semblent plutôt tenir de l'idiosyncrasie que de la généralité, avec une importante variabilité dans l'espace.

La seconde échelle temporelle d'étude de la variabilité thermique renvoie aux événements extrêmes se produisant à l'échelle de plusieurs jours. À ce niveau, la communauté de climatologues s'accorde à dire qu'une augmentation du nombre de jours particulièrement chauds (ainsi qu'une diminution du nombre de jours remarquablement froids) s'affirme comme une tendance presque généralisée du changement climatique à la surface du globe (IPCC, 2014). L'exemple le plus probant pour illustrer cette altération de la variabilité thermique en lien avec les perturbations d'origine anthropique est certainement celui des vagues de chaleur comme celles survenues en France (2003), en Russie (2010) ou très récemment en Europe (2019). Non seulement la fréquence d'occurrence de ces événements extrêmes (qui a, pour certaines localités, doublé depuis le milieu des années 1950), mais également leur intensité et leur durée, sont supposées augmenter dans les décennies à venir (Easterling et al., 2000; Meehl and Tebaldi, 2004; Perkins et al., 2012). L'amplitude de cette augmentation va probablement dépendre du degré de réchauffement à la surface du globe, laissant suggérer un lien positif entre les intensités des stress engendrés par ces différentes facettes du changement climatique sur les populations humaines et les écosystèmes (Dosio et al., 2018).

Par exemple, sous le postulat d'un réchauffement global de +1.5°C à l'horizon 2100, il est attendu que 13.8% de la population mondiale se retrouve exposée à une sévère vague de chaleur au moins une fois tous les cinq ans (alors que ce pourcentage est presque nul pour la période 1976-2005). Lorsque le scénario choisi est celui d'un réchauffement global de +2°C pour la même échéance, alors cette proportion est presque triplée (36.9%) (Dosio et al., 2018). D'un point de vue plus qualitatif, les caractéristiques de la vague de chaleur risquent aussi d'évoluer étroitement en parallèle avec le réchauffement global. Par exemple, l'augmentation de l'intensité des vagues de chaleur (valeurs maximales de température enregistrées durant l'épisode caniculaire) devrait être 0.5 à 1.5°C supérieure à l'augmentation de la température globale moyenne (Perkins-Kirkpatrick and Gibson, 2017). De la même façon, la durée de la vague de chaleur devrait s'accroître de 2 à 10 jours par degré de réchauffement climatique global (Perkins-Kirkpatrick and Gibson, 2017). Ces fourchettes de valeurs

d'augmentation traduisent, une fois encore, une forte variabilité spatiale dans les prédictions (par exemple, l'augmentation de l'intensité des vagues de chaleur devrait être très marquée dans les régions Méditerranéennes et l'Asie centrale, tandis que l'augmentation de leur durée serait la plus importante aux basses latitudes) (Perkins-Kirkpatrick and Gibson, 2017). Les conséquences humaines et écologiques de ces changements de caractéristiques des vagues de chaleur sont donc sujettes à des variations dans l'espace, non seulement car l'intensité de ces changements devrait présenter un certain degré d'hétérogénéité spatiale, mais également car les régions et les êtres vivants qui les peuplent ne sont pas également adaptés à ces événements extrêmes (IPCC, 2014; Meehl and Tebaldi, 2004).

2. DE L'INTÉRÊT PORTÉ AU CHANGEMENT CLIMATIQUE EN ÉCOLOGIE : EFFETS DU RÉCHAUFFEMENT SUR DIFFÉRENTS NIVEAUX D'ORGANISATION DU VIVANT

2.1. Biodiversité et extinction d'espèces

Depuis les années 2000, les preuves des multiples incidences du réchauffement climatique sur les différents niveaux d'organisation du vivant se sont accumulées (Fig.3) (Bellard et al., 2012; Hughes, 2000; Parmesan, 2006; Walther et al., 2002). Il ne subsiste aujourd'hui plus aucun doute quant à la réalité de la menace posée par ce phénomène global pour la pérennité des espèces et la biodiversité planétaire (Bellard et al., 2012; Maclean and Wilson, 2011; Thomas et al., 2004; Urban, 2015). La rapidité à laquelle le changement climatique s'opère pourrait être, pour bon nombre de taxons, en discordance avec l'échelle de temps inhérente aux processus évolutifs, beaucoup plus longue (Chevin et al., 2010). Ainsi, de nombreuses espèces se retrouvent sujettes à un risque d'extinction du fait de la contraction de leur aire de distribution, de la réduction de l'abondance de leurs populations, et de la perturbation des relations interspécifiques induites, au moins en partie, par les modifications de température se produisant dans leur environnement (Cahill et al., 2013; Koh et al., 2004; Thomas et al., 2006). En effet, le déclin de la biodiversité actuellement enregistré est un phénomène aux origines multiples, puisqu'il est la conséquence de plusieurs facteurs de changement global (perte et destruction des habitats, réchauffement climatique, invasions biologiques…) agissant bien souvent de concert et de manière synergétique

(Brook et al., 2008). Une méta-analyse récente, conduite à partir d'un ensemble de 131 études, a estimé que 7.9% des espèces pourraient, dans les prochaines décennies, disparaître en conséquence du changement climatique (taux d'extinction moyen sur les 131 études compilées) (Urban, 2015). Cette valeur est dépendante du degré de réchauffement climatique (scénario socio-économique envisagé pour les trajectoires futures d'émissions de gaz à effet de serre et de température globale moyenne), car l'extinction des espèces est supposée être un phénomène augmentant exponentiellement avec l'intensité du réchauffement global. Ainsi, les taux d'extinction peuvent atteindre 16% dans le cas du scénario prédisant la plus forte hausse de température moyenne d'ici la fin du siècle (RCP 8.5) (Urban, 2015). Elle varie également selon les zones géographiques, puisque les taux d'extinction les plus importants sont attendus sous les tropiques (taux moyen d'extinction égal à 23% en Amérique latine) et pour les faunes endémiques d'Australie et de Nouvelle-Zélande (14%) (Urban, 2015). Par ailleurs, il existe une variabilité de degré de vulnérabilité au réchauffement non négligeable entre groupes taxonomiques, les organismes les plus sensibles étant les amphibiens et les reptiles (taux d'extinction en moyenne supérieur à 10% dans les deux cas) (Urban, 2015).

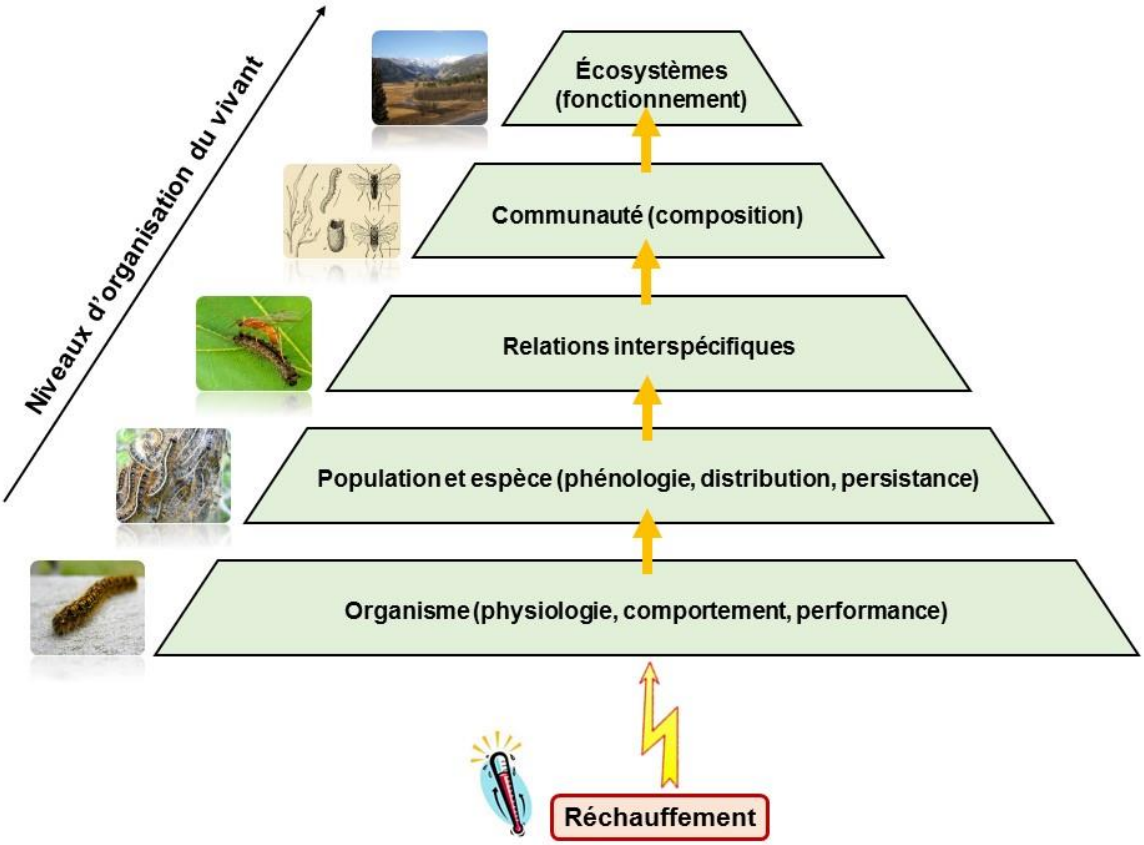


Figure 3 : *Schéma simplifié représentant les effets en cascade du réchauffement climatique sur les différents niveaux d'organisation du vivant parmi les plus étudiés en écologie. Au niveau individuel (organisme), l'augmentation des températures engendre des modifications physiologiques et comportementales ayant des incidences sur la performance. Ces modifications de performance individuelle conditionnent ensuite la manière dont les populations et les espèces peuvent répondre au réchauffement : altération de la phénologie ou déplacement des aires de distribution pour retrouver des conditions thermiques favorables, persistance* in situ *face à des conditions thermiques changeantes, assurée par des mécanismes évolutifs et/ou plastiques. Les réponses des espèces et leurs populations influencent à leur tour les relations interspécifiques, comme par exemple la dynamique des réseaux trophiques. Ces perturbations dans les interactions entre espèces se répercutent sur la composition des communautés (espèces constitutives de la communauté et leur abondance relative). Les changements intervenant dans les communautés déterminent* in fine *la structure et le fonctionnement des écosystèmes.*

2.2. Modifications de phénologie et d'aires de distribution des espèces, et conséquences pour les relations interspécifiques

Historiquement, les premiers indices d'impact du réchauffement sur le vivant ont certainement été fournis par l'examen de l'évolution, au cours des dernières décennies, des patterns d'occurrence des espèces dans le temps et dans l'espace. Dans le temps, l'empreinte du réchauffement se retranscrit par une avancée significative du timing de certains événements phénologiques clés chez de nombreux taxons (Körner and Basler, 2010; Menzel et al., 2006; Walther et al., 2002). Par une

méta-analyse, Parmesan et Yohe (2003) ont démontré que, sur les 484 espèces pour lesquelles une modification de la phénologie avait été observée, 87% répondaient effectivement aux tendances climatiques récentes par un déplacement de leur phénologie vers des dates plus précoces, avec une moyenne d'avancée de cette phénologie égale à 2.3 jours par décennie pour l'ensemble des taxons. Ces modifications phénologiques concernent tout autant la floraison et la feuillaison des plantes, la sortie de diapause des insectes, la saison de reproduction des amphibiens ou encore les timings de migration printanière des oiseaux (Walther et al., 2002). Dans l'espace, le constat est à un déplacement des aires de distribution vers des plus hautes latitudes ou altitudes chez un large éventail de taxons (plantes, lichens, insectes, oiseaux, poissons, mammifères…) (Chen et al., 2011; Parmesan et al., 1999; Walther et al., 2002). Toujours dans leur méta-analyse, Parmesan et Yohe (2003) ont retrouvé cette tendance chez 81% (pour la limite inférieure de l'aire de distribution) et 75% (pour la limite supérieure) des 460 espèces en déplacement, avec une moyenne de 6.1 km par décennie en direction des plus hautes latitudes (ou 6.1 m par décennie vers de plus hautes altitudes).

Ces altérations de distribution des espèces et leurs populations dans le temps et l'espace se répercutent au niveau des relations interspécifiques et, par voie de conséquence, sur la composition des communautés et le fonctionnement des écosystèmes (Dossena et al., 2012; Tylianakis et al., 2008; Walther, 2010). Il existe donc une seconde voie d'action, plus indirecte, par laquelle le réchauffement peut agir sur les espèces, au travers des liens écologiques qui les associent. En considérant l'exemple de la phénologie, les réponses des différentes espèces d'un réseau trophique à une augmentation des températures peuvent grandement diverger en termes d'intensité car ces taxons peuvent présenter des degrés de sensibilité dissemblables vis-à-vis de leurs conditions thermiques, ou parce que leur phénologie n'est pas régie par les mêmes facteurs environnementaux (Both et al., 2009; Thackeray et al., 2016). Ce genre de phénomène peut conduire à une diminution du niveau de synchronisation temporelle entre espèces appartenant à différents niveaux trophiques et ainsi perturber la dynamique des interactions (Hance et al., 2007; Visser and Both, 2005; Walther, 2010). Les changements d'aires de répartition impliquent, quant à eux, une réorganisation potentiellement profonde de la structure des communautés, puisqu'ils peuvent mettre en contact des espèces vivant auparavant

dans des entités géographiques distinctes et susceptibles de former des liens écologiques nouveaux entre elles (Jeffs and Lewis, 2013; Walther, 2010). De plus, les différentes espèces de la communauté ne répondent pas de manière égale au réchauffement climatique dans l'espace (du fait, par exemple, de leur degré de spécialisation vis-à-vis d'un type d'habitat ou de ressource particulier, ou de leurs capacités de dispersion) (Chen et al., 2011; Le Roux and McGeoch, 2008; Walther, 2010). L'acquisition d'espèces aux caractéristiques physiologiques et comportementales nouvelles en une zone donnée, de même que, dans certains cas, la colonisation d'un territoire par une espèce de laquelle ses ennemis naturels (prédateurs, parasitoïdes…) sont absents, peuvent contribuer à remodeler les relations interspécifiques au sein des réseaux écologiques et affecter les abondances relatives des différentes espèces présentes dans la communauté (Jeffs and Lewis, 2013; Van der Putten et al., 2010).

2.3. Au niveau individuel : la courbe de performance thermique prédit la réponse des traits d'histoire de vie au réchauffement

À l'échelle de l'organisme, la température conditionne de manière très étroite la survie, la physiologie et le comportement, en résumé la performance individuelle (Abram et al., 2017; Angilletta et al., 2010). À cet égard, la relation entre une métrique reliée à la performance individuelle (comme un taux physiologique) et la température environnementale se matérialise par une courbe de performance thermique (aussi appelée norme de réaction thermique). Ces courbes s'appliquent à de nombreux organismes, en particulier aux ectothermes comme les insectes, dont la température corporelle varie substantiellement en lien avec la température de l'environnement du fait de capacités de thermorégulation limitées (Angilletta et al., 2010; Huey and Kingsolver, 1989; Huey and Stevenson, 1979). Les courbes de performance thermique présentent deux propriétés distinctives : elles sont unimodales et asymétriques. Leur nature unimodale implique que, à mesure que la température de l'environnement s'accroît, la performance s'élève jusqu'à une unique valeur maximale associée à un optimum thermique (température pour laquelle la performance culmine). Dès que la température environnementale excède cet optimum, la performance décroît. Par ailleurs, ces courbes sont qualifiées d'asymétriques car l'augmentation de

performance jusqu'à l'optimum thermique est bien plus graduelle que la chute brutale une fois cet optimum dépassé (Angilletta et al., 2010; Huey and Kingsolver, 1989) (Fig.4).

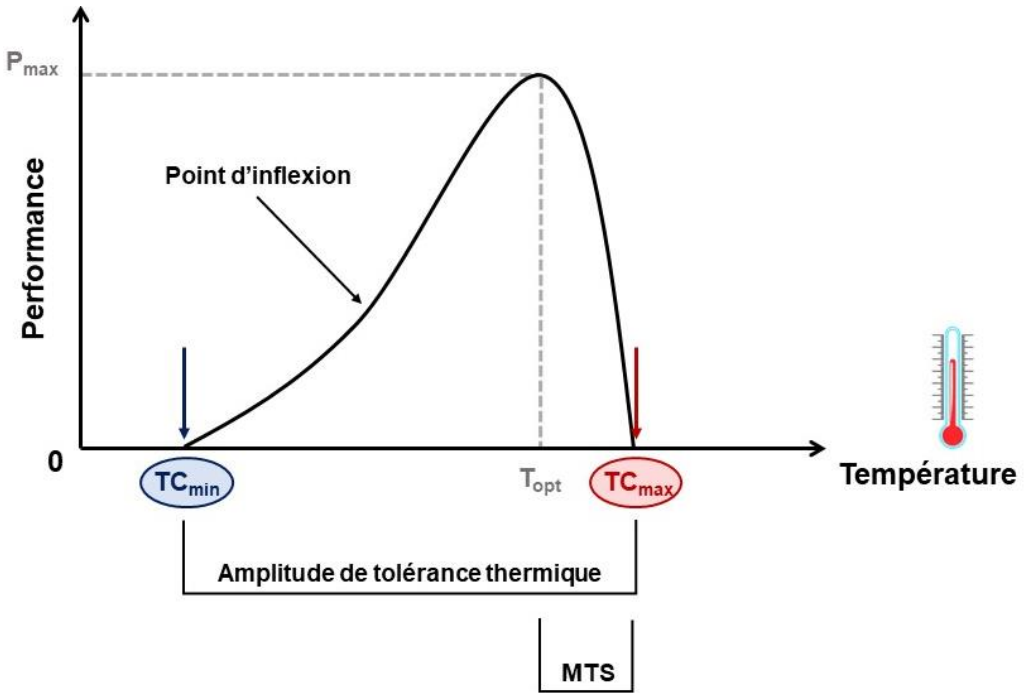


Figure 4 : *La courbe de performance thermique prédit comment la température de l'environnement peut affecter l'expression d'un trait relié à la performance chez un ectotherme (réponse thermique au niveau individuel). Ce concept permet de définir un certain nombre de métriques utiles pour synthétiser la thermobiologie d'une espèce et d'appréhender sa sensibilité face au changement climatique. L'optimum thermique (T_{opt}) est probablement la plus connue de ces métriques, et correspond à la valeur de température pour laquelle la performance atteint sa valeur maximale (P_{max}). La courbe est bornée par les températures critiques minimale (TC_{min}) et maximale (TC_{max}), en-dessous et au-dessus desquelles la performance est nulle. L'intervalle entre ces deux valeurs correspond à l'amplitude de tolérance thermique de l'organisme, soit la gamme de températures continuellement supportables par l'espèce. Enfin, le concept de marge thermique de sécurité (MTS, en anglais* « thermal safety margin »*) renvoie à l'intervalle de températures comprises entre l'optimum thermique et la température critique maximale, et renseigne sur la vitesse du déclin de performance une fois la température optimale franchie.*

Rapidement, les études visant à définir les impacts écologiques du réchauffement ont accordé une importance toute particulière à la réponse thermique observable au niveau individuel, c'est-à-dire comment la performance de l'organisme peut évoluer sous des conditions thermiques changeantes, cherchant à reproduire les températures représentatives des contextes climatiques actuel et futur en un lieu donné (Deutsch et al., 2008; Sinclair et al., 2016; Vasseur et al., 2014). En effet, l'examen de la sensibilité thermique de la performance individuelle peut se révéler particulièrement informatif dans le but de prédire les réponses des populations, espèces et leurs interactions au réchauffement climatique, puisque les effets de la

température observés au niveau de l'organisme peuvent se répercuter en cascade sur tous les niveaux d'organisation supérieurs (Fig.3).

2.4. Comment la réponse à la température observée au niveau individuel peut-elle permettre de prédire les conséquences du réchauffement pour les populations et les interactions entre espèces ? L'exemple des insectes ravageurs des cultures

En écologie, les études placées dans le contexte du réchauffement climatique font aujourd'hui face à un enjeu majeur : celui de prédire avec précision la réponse des individus, populations, espèces et leurs interactions au changement climatique (Tylianakis et al., 2008; Van der Putten et al., 2010; Walther, 2010). Les dimensions de cet enjeu, intégré dans une perspective appliquée, apparaissent particulièrement évidentes en considérant l'exemple des insectes ravageurs des cultures, à l'heure actuelle responsables d'une perte chiffrée à 20% de la production agricole totale à l'échelle planétaire (Dhaliwal et al., 2015; Oerke, 2006). Les cultures mondiales ne sont pas uniquement la cible de 10 000 espèces d'insectes phytophages, mais elles sont aussi exposées à près de 100 000 maladies bactériennes, fongiques ou virales, pour beaucoup véhiculées par ces insectes ravageurs (Dhaliwal et al., 2010; Dhaliwal et al., 2015). Dans le contexte d'une croissance démographique humaine de nature exponentielle, le réchauffement climatique représente une menace sérieuse à la pérennisation d'un approvisionnement suffisant en nourriture pour la population mondiale (Tilman et al., 2011; Wheeler and von Braun, 2013). Ce dernier peut en effet affecter la productivité des systèmes agricoles par voie directe, via modification des facteurs abiotiques susceptibles d'influer sur la croissance des plantes, comme la température, la concentration en CO_2 atmosphérique, les régimes de précipitation, ou encore l'intensité du rayonnement ultraviolet (Rosenzweig et al., 2014). En plus de cette voie d'action directe, il peut agir indirectement sur les cultures en modifiant les dynamiques des populations d'insectes ravageurs et donc la pression exercée par ces phytophages sur les plantes cultivées (Bale et al., 2002; Deutsch et al., 2018; Porter et al., 1991). Dans le but d'anticiper les pertes agricoles futures, prédire la manière dont le réchauffement climatique peut affecter la dynamique d'abondance des ravageurs et leurs interactions avec les autres niveaux trophiques (en particulier les

ennemis naturels participant activement à la régulation des populations de ces ravageurs) s'affirme comme un enjeu scientifique, économique et sociétal de large ampleur (Deutsch et al., 2018; Sharma, 2014). Ainsi, via une approche de modélisation, Deutsch et al. (2018) ont notamment prédit une augmentation des pertes de production céréalière dues aux insectes ravageurs pouvant s'élever de 10 à 25% par degré Celsius d'augmentation de température moyenne. Les pertes les plus significatives sont pressenties dans les régions tempérées, où le réchauffement climatique devrait conduire à des effets bénéfiques sur les insectes ravageurs en rapprochant les conditions thermiques environnementales de leur optimum thermique (Deutsch et al., 2008; Deutsch et al., 2018).

De telles prédictions en termes de dynamique populationnelle peuvent être dérivées de l'examen de la réponse des traits d'histoire de vie des ravageurs à une augmentation des températures, mais requièrent toutefois des connaissances approfondies concernant la biologie et l'écologie de ces insectes phytophages (Bale et al., 2002). Cette approche individu-centrée, focalisée sur la réponse physiologique individuelle de l'insecte à la température, permet notamment d'inférer les taux démographiques de la population à partir de la relation établie par voie empirique (expérimentale) entre plusieurs fonctions vitales du ravageur et la température de l'environnement (Deutsch et al., 2018; Estay et al., 2009; Gutierrez et al., 2017; Zidon et al., 2016). Trois processus physiologiques sont classiquement pris en compte pour conjecturer la dynamique des populations de ravageurs à partir des réponses thermiques de leurs traits d'histoire de vie. Premièrement, la survie, en particulier celle des individus pendant la saison hivernale, est un paramètre démographique clé de la persistance de la population (Radchuk et al., 2013). À ce titre, plusieurs études ont postulé qu'une augmentation de la survie hivernale des ravageurs pourrait se produire en réponse au réchauffement climatique, rendant les conditions thermiques durant la saison défavorable moins rigoureuses (Bale et al., 2002; Robinet and Roques, 2010). Deuxièmement, le taux de développement est souvent pris en considération dans le but de prédire les conséquences du réchauffement sur la durée du cycle biologique du ravageur et ainsi son voltinisme (nombre de générations réalisées annuellement par l'insecte). En se focalisant sur ce trait d'histoire de vie, il est largement admis que les insectes phytophages devraient répondre au réchauffement par une accélération de leur développement et une réduction de la durée de leur cycle de vie, pouvant conduire

à une augmentation du voltinisme concourant à intensifier la pression exercée par ces insectes sur les cultures pendant la saison de croissance (Martín-Vertedor et al., 2010; Robinet and Roques, 2010; Ziter et al., 2012). Troisièmement, la dynamique des populations des ravageurs va être conditionnée par leur succès de reproduction, lequel est bien souvent assimilé à la fécondité (production en œufs) des femelles. Cependant, la pertinence de cette considération simplifiée du système de reproduction des ravageurs a fréquemment été questionnée, au regard de l'omission du rôle médiateur joué par le mâle, dont la qualité de l'éjaculat transféré durant l'accouplement peut avoir des répercussions profondes sur la productivité des femelles (Ferguson et al., 2005; Muller, 2016; Rankin and Kokko, 2007). Malgré l'influence prépondérante de cette composante mâle dans le succès de reproduction des ravageurs, relativement peu d'informations ont été collectées quant à la modulation thermique des traits sexuels mâles afin d'anticiper les éventuelles conséquences pour la ponte des femelles après accouplement (Vasudeva et al., 2014; Zeh et al., 2012).

Par ailleurs, les réponses des ravageurs au réchauffement sont indissociables de leur interaction avec le niveau trophique supérieur, en particulier les insectes parasitoïdes responsables d'une large part de la mortalité naturelle observée au sein des populations de ces ravageurs (Hawkins et al., 1997; Stireman et al., 2005; Thomson et al., 2010). Au-delà des traits d'histoire de vie classiquement mesurés comme prédicteurs de la dynamique des populations des ravageurs, d'autres traits peuvent être pris en considération dans le but d'évaluer les conséquences du changement climatique sur la susceptibilité future des ravageurs face à leurs ennemis naturels. Dans le contexte des relations hôte-parasitoïde, plusieurs traits constitutifs du système défensif des ravageurs face aux parasitoïdes peuvent être examinés (voir le contexte général du Chapitre III ci-dessous). Plus particulièrement, les conséquences du réchauffement sur la dynamique entre ces deux niveaux trophiques peuvent être appréhendées au regard de la modulation thermique des comportements défensifs des ravageurs et de leur immunité, cherchant à les prémunir de la ponte et du développement des parasitoïdes, respectivement (Le Lann et al., 2014; Seehausen et al., 2017a; Thierry et al., 2019). Ainsi, une connaissance détaillée des effets de la température sur la résistance des insectes phytophages face à leurs ennemis naturels peut permettre d'évaluer les conséquences du changement climatique en termes de

pression exercée (mortalité provoquée) par ces agents de contrôle biologique sur les populations de ravageurs.

L'exemple des ravageurs des cultures démontre clairement que les prédictions formulées quant aux conséquences du réchauffement sur les populations, les espèces et leurs interactions peuvent reposer sur une base mécanistique centrée sur la réponse des individus (examen de la réponse thermique de différents traits d'histoire de vie) et acquise par voie expérimentale. La collecte de ces données empiriques nécessite de comparer la performance de l'organisme entre des régimes simulant les conditions thermiques actuelles et futures en un endroit donné (pour des exemples, voir Bauerfeind and Fischer, 2014; David et al., 2017; Fischer et al., 2014). Ainsi, la question inhérente à cette démarche intellectuelle est de choisir comment définir les régimes thermiques à comparer, en d'autres termes, comment conceptualiser le réchauffement climatique pour l'incorporer dans cette procédure expérimentale. Cette question a longtemps suscité le plus vif intérêt de la communauté scientifique et s'est, au cours du temps et des avancées scientifiques, enrichie de plusieurs concepts relevant tout autant de la thermobiologie, de l'écologie et de la climatologie (Colinet et al., 2015; Harris et al., 2014; Helmuth et al., 2014; Thompson et al., 2013).

3. DE LA CLIMATOLOGIE À L'ÉCOLOGIE : COMMENT EST CONCEPTUALISÉ LE RÉCHAUFFEMENT CLIMATIQUE DANS LES ÉTUDES EN ÉCOLOGIE ?

3.1. Les régimes constants pour caractériser les réponses thermiques de différents traits reliés à la performance individuelle

Bon nombre d'études s'intéressant aux effets de températures croissantes sur la performance individuelle se sont basées sur des designs expérimentaux faisant intervenir des régimes constants, c'est-à-dire dont la température est invariable dans le temps (pour des exemples récents, voir Fonseca et al., 2016; Laughton et al., 2017). Ce faisant, elles ont centralisé leur intérêt sur la réponse de la performance individuelle à une augmentation de température moyenne comme manifestation évidente des perturbations climatiques engendrées par le réchauffement. Cette méthode expérimentale d'imitation du réchauffement climatique permet, de manière simple et intuitive, de caractériser la réponse thermique de différents traits d'histoire de vie de l'organisme, et ainsi de mettre en exergue des différences de sensibilité thermique

pouvant exister entre traits (Laughton et al., 2017; Seehausen et al., 2017b). Chez la pyrale indienne des fruits secs par exemple (*Plodia interpunctella*), une hausse de température moyenne de 20 à 30°C réduisait de moitié la durée du développement total (de l'œuf à l'adulte), mais s'accompagnait cependant d'effets négatifs sur la longévité de l'adulte après accouplement (-32%) et sur l'immunité des larves (charge hémocytaire de l'hémolymphe réduite de plus de 50%) (Laughton et al., 2017). Ces résultats attestent de différences de réponse à la température (et d'optimum thermique) entre traits d'histoire de vie. Ainsi, les conclusions quant à la manière dont l'augmentation de température moyenne peut affecter la performance individuelle vont dépendre du gradient de températures moyennes comparées et de sa position par rapport à l'optimum thermique du trait considéré. Dans un design expérimental faisant intervenir une comparaison de régimes constants, l'élévation de température moyenne peut avoir des effets bénéfiques sur l'expression d'un trait et la performance de l'organisme si elle rapproche les conditions thermiques de l'optimum pour ce trait, ou néfastes si elle amène ces conditions à le dépasser. La vulnérabilité d'une espèce au réchauffement dépend donc tout autant de ses caractéristiques en termes de sensibilité thermique (valeur d'optimum thermique du trait considéré) et de la magnitude d'augmentation de température moyenne à laquelle elle est exposée.

3.2. *But means are the abstractions, variation is the hard reality* : l'intégration des fluctuations thermiques et leur altération dans les études d'impact du réchauffement

Les comparaisons de régimes constants présentent une valeur heuristique certaine, car elles se présentent comme des méthodes conceptuellement intuitives et techniquement simples à mettre en œuvre pour déterminer les effets d'une augmentation de température moyenne sur différents traits prédictifs de la performance individuelle par le prisme des courbes de performance thermique. Toutefois, ce genre de design souffre inéluctablement d'un manque de réalisme écologique, car les environnements thermiques naturels sont plus dynamiques et complexes que des régimes constants auxquels ils sont ainsi assimilés. En effet, les organismes vivants sont en permanence exposés à une variation des températures *in natura* (pour une revue récente, voir Colinet et al., 2015) (Fig.5). Cette variabilité thermique est perceptible dans le temps, comme peuvent l'illustrer les fluctuations

quotidiennes des températures, dont l'amplitude varie selon les saisons et les habitats pour dépasser 30°C dans les cas les plus extrêmes comme les environnements polaires (Sinclair et al., 2006). Elle se matérialise aussi dans l'espace, en particulier pour des organismes de faible taille corporelle comme les insectes, capables de percevoir et d'exploiter une importante hétérogénéité de conditions microclimatiques (Pincebourde and Woods, 2012; Potter et al., 2013; Terblanche et al., 2015). Par exemple, les températures peuvent varier de parfois plus de 15°C à l'échelle d'une parcelle de 100 cm² d'herbacées rases (Potter et al., 2013), tandis qu'une différence parfois supérieure à 10°C peut être observée entre baies au sein d'une même grappe de raisin (Moffat, 2013). Pour ces raisons, il est très réducteur de considérer que le budget d'énergie thermique reçue par un organisme soit constant dans le temps et l'espace. L'intégration des fluctuations thermiques s'est ainsi révélée indispensable dans le but d'approfondir la compréhension des impacts du réchauffement sur les organismes et les niveaux d'organisation supérieurs (Colinet et al., 2015; Estay et al., 2014; Folguera et al., 2011; Vázquez et al., 2017).

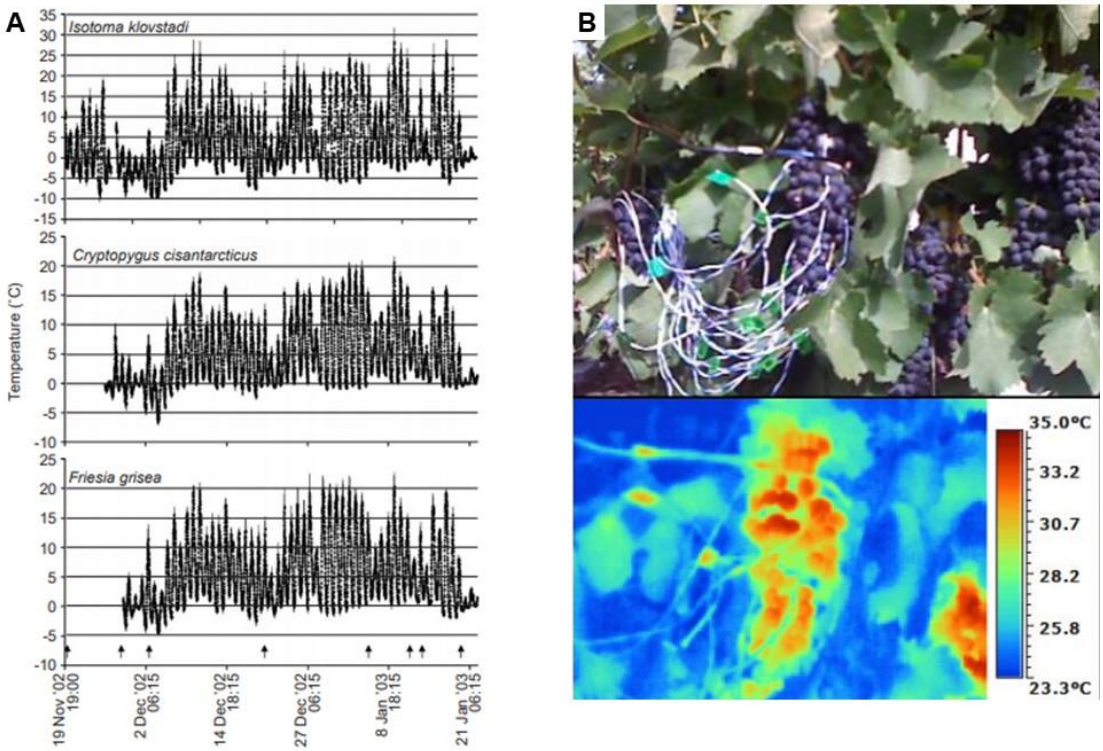


Figure 5 : *Deux exemples illustratifs de la variabilité naturelle de températures que peuvent rencontrer les organismes dans leur environnement. Cette variabilité existe dans le temps (A), ici des variations de température prises à intervalle de 10 minutes sur une période de deux mois, pour trois espèces polaires de collemboles. Les températures fluctuent aussi dans l'espace (B), comme ici à l'échelle d'une grappe de baies de raisin. Repris d'après Sinclair et al. (2006) et Moffat (2013).*

Les variations de température au cours de la journée sont probablement les plus étudiées en écologie, et leur exemple est particulièrement révélateur de l'importance que peut prendre la manière choisie pour simuler le réchauffement climatique dans les études expérimentales de laboratoire (Bozinovic et al., 2016; Folguera et al., 2011; Paaijmans et al., 2013). De nombreuses études ont mis en évidence les effets de ces fluctuations thermiques sur un grand nombre de traits d'histoire de vie chez les insectes, reliés aussi bien à la dynamique de la population (développement, croissance, longévité, reproduction, budgets énergétiques, tolérance aux températures extrêmes) et aux relations hôte-parasitoïde (immunité) (Colinet et al., 2015; Fischer et al., 2011). Au niveau individuel, les impacts de cette variabilité thermique s'expliquent via l'examen des courbes de performance thermique. Effectivement, la nature non linéaire de la relation qui unit les processus biochimiques et physiologiques des ectothermes à la température implique qu'une déviation, même de faible amplitude, par rapport à une valeur de température moyenne peut avoir des conséquences non négligeables en termes de performance individuelle. Par ailleurs, du fait de l'asymétrie des courbes de performance thermique de part et d'autre de l'optimum thermique, la nature des effets causés par la variabilité thermique sur la performance va dépendre de la température moyenne autour de laquelle les fluctuations s'opèrent, comme l'explique l'inégalité de Jensen (Denny, 2017; Martin and Huey, 2008; Ruel and Ayres, 1999). D'après cette propriété mathématique applicable aux fonctions non linéaires comme celle inhérente aux courbes de performance thermique, les fluctuations ont un effet bénéfique sur la performance si elles s'exercent autour d'une température moyenne inférieure à l'optimum thermique pour le trait considéré (dans la partie convexe de la courbe de performance thermique). Au contraire, un déclin de performance est attendu si les fluctuations sont associées avec une température moyenne égale ou supérieure à cet optimum thermique, dans la partie concave de la courbe de performance thermique (pour des preuves expérimentales de l'inégalité de Jensen, voir Bozinovic et al., 2011; Foray et al., 2014; Kingsolver et al., 2015) (Fig.6).

Dans un contexte de réchauffement climatique et d'augmentation de température moyenne, il apparaît donc que la variabilité thermique naturelle puisse exacerber les risques d'exposition des organismes, pendant des durées plus ou moins prolongées, à des températures supra-optimales associées avec l'effondrement de la performance, dans la partie concave de la courbe de performance thermique (Paaijmans et al., 2013; Stoks et al., 2017; Vasseur et al., 2014; Vázquez et al., 2017). Ce dépassement de l'optimum thermique durant les heures les plus chaudes du cycle quotidien des températures est d'autant plus plausible que, parallèlement à l'augmentation de température moyenne, il est aussi attendu un accroissement de l'amplitude thermique journalière dans de nombreuses localités (voir la section 1.2. du Chapitre I ci-dessus). Ainsi, les effets du réchauffement climatique sur les organismes sont mieux appréhendés en considérant simultanément les changements se produisant à la fois dans la température moyenne et la variabilité thermique, les seconds pouvant parfois avoir un impact aussi important, voire plus important, que les premiers en termes de performance individuelle et de dynamique des populations (Stoks et al., 2017; Vasseur et al., 2014; Vázquez et al., 2017) (Fig.6). Par exemple, Vasseur et al. (2014) ont démontré, au travers d'une étude conduite sur la réponse d'un ensemble de 38 taxons invertébrés au changement climatique, que la variation de performance était expliquée à 32% en considérant uniquement le changement de température moyenne, à 54% en ne conservant que le changement de variabilité thermique (amplitude thermique journalière), et à 93% en intégrant l'interaction entre ces deux facettes du réchauffement climatique. En outre, la direction de l'effet variait elle aussi. Si l'augmentation de température moyenne projetée avait des effets généralement positifs sur la performance des différents taxons en les rapprochant de leur optimum thermique, la considération en parallèle des changements de variabilité thermique générait des effets beaucoup plus variables (négatifs, nuls, ou positifs) et d'amplitude souvent plus importante, du fait de la non-linéarité de la relation entre performance et température. Ces résultats démontrent aussi que l'interaction entre changements de température moyenne et de variabilité thermique n'a pas des effets trivialement négatifs sur les organismes. Les capacités des individus à répondre à ces modifications peuvent dépendre de leur tolérance thermique, définie par le degré d'incurvation de la courbe de performance thermique, de processus d'acclimatation et d'évolution susceptibles de modifier l'allure de ces courbes, ou encore de l'expression de comportements de thermorégulation permettant de dissocier, dans une certaine

mesure, la température du corps de l'insecte de celle de son environnement (Huey et al., 2012; Sinclair et al., 2016; Verheyen and Stoks, 2019). Du fait de la nature interactive des effets liés aux changements de température moyenne et de variabilité thermique sur le vivant, incorporer des patterns d'altération des températures écologiquement et climatiquement réalistes est devenu aujourd'hui un enjeu majeur en écologie, dans le but de prédire avec précision la réponse des populations et des espèces au changement climatique (Helmuth et al., 2014; Sgrò et al., 2016; Thompson et al., 2013).

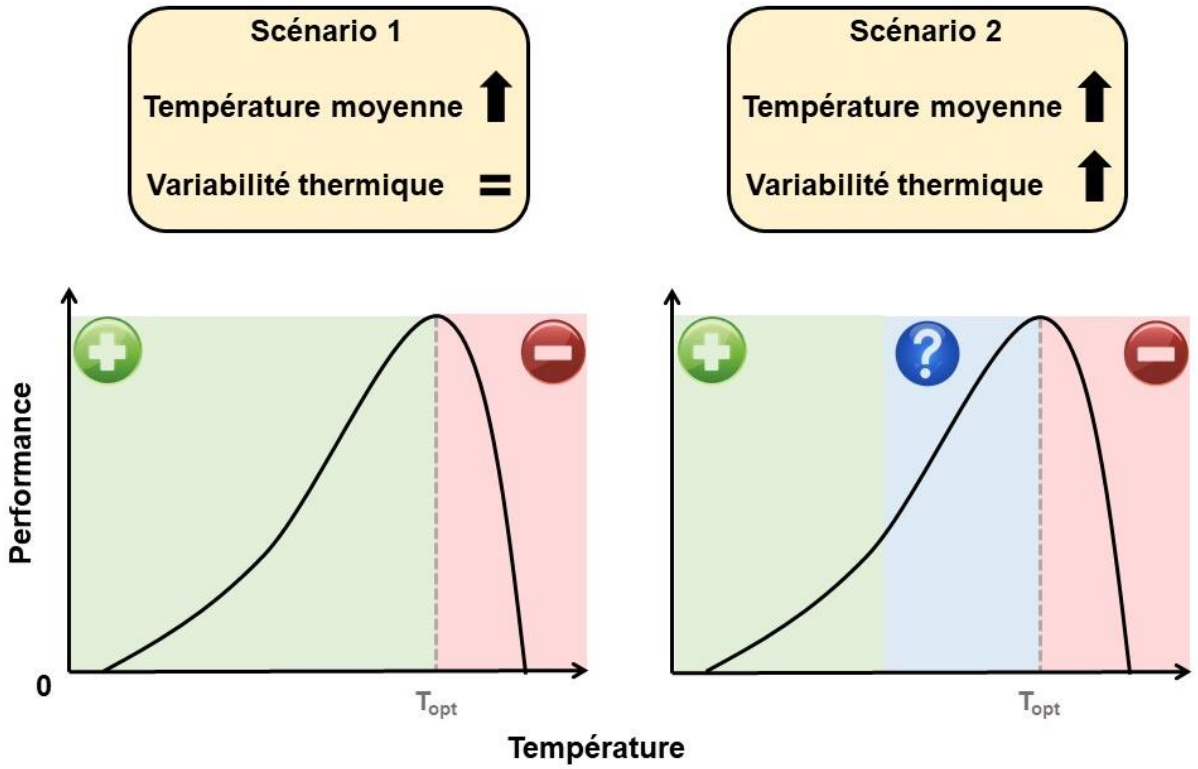


Figure 6 : *Les effets des fluctuations thermiques sur la performance des ectothermes sont dépendants tout autant de leur magnitude que de la température moyenne autour de laquelle cette variabilité thermique s'opère. Un certain nombre d'études en écologie ont choisi comme méthode d'imitation du réchauffement climatique le scénario 1 présenté ci-dessus : une augmentation de température moyenne sans altération de la variabilité thermique. Les conséquences des fluctuations en termes de performance sont alors prédites par l'inégalité de Jensen : les fluctuations ont un effet bénéfique sur l'organisme (zone verte) pour une température moyenne inférieure à l'optimum thermique, et négatif (zone rouge) pour une température moyenne au-delà de cet optimum. D'autres études ont adopté le scénario 2, incorporant une augmentation simultanée de température moyenne et d'amplitude des fluctuations. La prédiction des impacts de ces dernières sur l'organisme est alors plus complexe. Ils sont supposés positifs pour une température moyenne inférieure au point d'inflexion de la courbe, et négatifs pour une température moyenne supérieure à l'optimum thermique. Entre ces deux valeurs de température moyenne, les effets sont mixtes (zone bleue) : ils peuvent être positifs comme négatifs. La nature de ces effets va dépendre de multiples facteurs, comme les magnitudes relatives d'augmentation de la température moyenne et de la variabilité thermique, la sensibilité de l'organisme à cette variabilité (amplitude de tolérance thermique, marge thermique de sécurité), la capacité de l'organisme à éviter (comportements de thermorégulation) ou à tirer profit de brèves expositions à des températures élevées… Modifié d'après Estay et al. (2014).*

3.3. Un nouveau défi pour les prédictions en écologie dans le cadre du changement climatique : le cas particulier des vagues de chaleur

Au cours des dernières années, un nombre grandissant d'études en écologie s'est tourné vers les impacts des vagues de chaleur sur les différents niveaux d'organisation du vivant (Jentsch et al., 2007; Smith, 2011; Stoks et al., 2017). Toutefois, dans une optique de retranscrire ces événements thermiques extrêmes au travers de traitements expérimentaux appliqués au laboratoire, ces études se sont heurtées à un obstacle majeur : l'absence de consensus sur la définition climatologique d'une vague de chaleur. En effet, bien que tous les climatologues se rejoignent sur la nature plus ou moins prolongée (de un à plusieurs jour(s)) de ces événements extrêmes et leurs impacts majeurs sur la santé humaine et les écosystèmes, des désaccords sémantiques subsistent quant au seuil absolu de température devant être dépassé, la métrique thermique à considérer (température moyenne, minimale ou maximale journalière), et la durée de l'événement requise pour caractériser sans équivoque une vague de chaleur (Meehl and Tebaldi, 2004; Smith et al., 2013). À titre d'exemple, Smith et al. (2013) ont répertorié 16 manières distinctes de définir une vague de chaleur en se basant sur la littérature disponible en climatologie. En écologie, deux designs expérimentaux sont employés pour simuler une vague de chaleur : une exposition unique et ponctuelle à des températures extrêmes, dans certains cas sublétales (en dehors de l'amplitude de tolérance thermique de l'espèce) ; ou une exposition chronique, avec une fréquence plus importante, à des températures modérément stressantes (supra-optimales mais comprises dans l'amplitude de tolérance thermique de l'espèce) (Zhang et al., 2015b). Ces deux méthodes conduisent sensiblement aux mêmes conclusions en termes d'impacts biologiques : l'exposition, même ponctuelle, à des températures excessivement élevées (au-delà de l'optimum thermique voire de la température critique maximale) engendre bien souvent un déclin généralisé de la performance et persistant à l'échelle de plusieurs stades de vie (Chiu et al., 2015; Fischer et al., 2014; Zhang et al., 2013; Zhang et al., 2015a). Ces impacts au niveau individuel se répercutent en cascade sur les niveaux d'organisation supérieurs, comme en témoignent les effets avérés des vagues de chaleur sur les populations (diminution des taux démographiques, modification de la constitution génétique des populations) et les communautés (changements dans la hiérarchie de dominance entre espèces en compétition, perturbation des relations

interspécifiques comme les interactions hôte-parasitoïde) (Gillespie et al., 2012; Ma et al., 2015; Rodriguez-Trelles et al., 2013).

Les insectes sont toutefois loin d'être démunis face aux vagues de chaleur, puisqu'ils peuvent exprimer des mécanismes de réparation des dommages physiologiques subis lors de l'exposition à des hautes températures, et ainsi contrebalancer les conséquences négatives de ces épisodes caniculaires en termes de performance (Bowler and Kashmeery, 1979; Malmendal et al., 2006). Cette réponse vise à maintenir l'homéostasie physiologique et cellulaire, via une modification des concentrations cellulaires en différents métabolites ainsi que la synthèse de protéines chaperonnes (« *heat shock* proteins »), dont la fonction est de protéger les autres protéines cellulaires de la dénaturation induite par la chaleur (King and MacRae, 2015; Malmendal et al., 2006; Zhao and Jones, 2012). De tels mécanismes compensatoires semblent opérationnels lors du retour à des températures « normales », amenant certains auteurs à penser qu'ils doivent plus facilement se réaliser dans le cas d'une exposition ponctuelle et unique suivie d'un retour permanent à des conditions thermiques favorables pour l'espèce (Zhang et al., 2015b). La réalité semble plus complexe, puisque des travaux récents ont démontré que, même dans un cas d'exposition chronique (sur plusieurs jours) à la vague de chaleur, les impacts de celle-ci sur la performance individuelle et la dynamique populationnelle dépendaient grandement de la distribution dans le temps et l'alternance des jours de vague de chaleur et des jours « normaux » permettant l'expression de mécanismes de réparation (Ma et al., 2018a). Ces résultats suggèrent donc une compensation possible même dans un cas d'exposition régulière à des températures élevées, entrecoupée de périodes de récupération. Une telle compensation dépend vraisemblablement d'une balance subtile entre dégâts subis lors des journées de chaleur et mécanismes de régénération exprimés lors des journées aux températures plus propices à la survie de l'organisme (Ma et al., 2018a). Dans cette optique, identifier les mécanismes mis en jeu dans la réponse individuelle à la vague de chaleur et les conditions écologiques susceptibles de moduler leur efficacité est un pan de recherche potentiellement intéressant afin d'approfondir la compréhension des impacts des vagues de chaleur sur les différents niveaux d'organisation du vivant (Ma et al., 2018a; Zhu et al., 2019).

4. PRÉSENTATION DE LA THÈSE : IMPACTS DU RÉCHAUFFEMENT CLIMATIQUE SUR LA PERFORMANCE D'UN RAVAGEUR DE LA VIGNE ET CONSÉQUENCES POUR LES RELATIONS TRITROPHIQUES

4.1. Le cas du système tritrophique en milieu viticole : effets potentiels de la température sur l'eudémis et sur les deux niveaux trophiques adjacents

Ce travail de thèse se porte sur un insecte Lépidoptère reconnu comme l'un des principaux ravageurs des cultures viticoles en Europe : l'eudémis de la vigne (*Lobesia botrana*). Au regard des importantes pertes de production pouvant être engendrées par ce ravageur à l'état larvaire (voir la section 1.2.2. du Chapitre II ci-dessous), anticiper les conséquences du réchauffement climatique sur les populations d'eudémis et appréhender les répercussions pour l'activité viticole se révèle être un enjeu actuel majeur pour la recherche en viticulture (Castex et al., 2018; Reineke and Thiéry, 2016; Thiéry et al., 2018). Au sein des agroécosystèmes, ce phytophage est intégré dans un contexte écologique qualifié de « système tritrophique », puisqu'il implique des relations trophiques avec le niveau inférieur (la plante hôte) et le niveau supérieur (les ennemis naturels, dont la guilde de parasitoïdes). La température est donc susceptible d'agir par différentes voies sur les populations d'eudémis : une voie directe via modulation thermique des traits d'histoire de vie du ravageur, une voie indirecte régulée par les caractéristiques de la plante hôte (effets « *bottom-up* ») et une voie indirecte influencée par la virulence des ennemis naturels (effets « *top-down* ») (Han et al., 2019; Reineke and Thiéry, 2016) (Fig.7). Les effets directs de la température sur la performance des chenilles et adultes d'eudémis sont les mieux renseignés, puisque les courbes de performance thermique des principales fonctions vitales permettant d'inférer la dynamique de population du ravageur (développement larvaire, survie larvaire, production en œufs des femelles) ont déjà été caractérisées (voir Gutierrez et al., 2012). Cependant, les prédictions quant à la performance future du ravageur dans un scénario de réchauffement climatique se heurtent à deux limites majeures. La première est celle d'un examen jusqu'à présent restreint à un trop faible nombre de traits d'histoire de vie du phytophage. Par exemple, les effets de la température sur les capacités de défense des chenilles face à leurs ennemis naturels, qui vont grandement conditionner la survie larvaire dans les agroécosystèmes, sont encore inconnus. Le même constat est valable pour la performance sexuelle des mâles qui, via le transfert d'un spermatophore riche en matériel spermatique et substances

énergétiques pouvant être assimilées par la femelle et réinvesties dans sa production d'œufs, conditionnent activement dans le succès de reproduction de l'espèce (Muller, 2016). La seconde est le manque de considération portée à la variabilité thermique et son altération par le réchauffement climatique, puisque toutes les études portées sur la modulation thermique de la performance d'eudémis ont été jusqu'alors conduites avec des régimes constants. Par ailleurs, les effets indirects de la température agissant sur l'interaction du ravageur avec les deux niveaux trophiques associés n'ont jamais été étudiés. Ainsi, la manière dont la qualité de l'alimentation peut influencer la réponse d'eudémis à différentes conditions thermiques est inconnue, de même que les conséquences de la température sur l'interaction entre ce ravageur et le cortège d'insectes parasitoïdes.

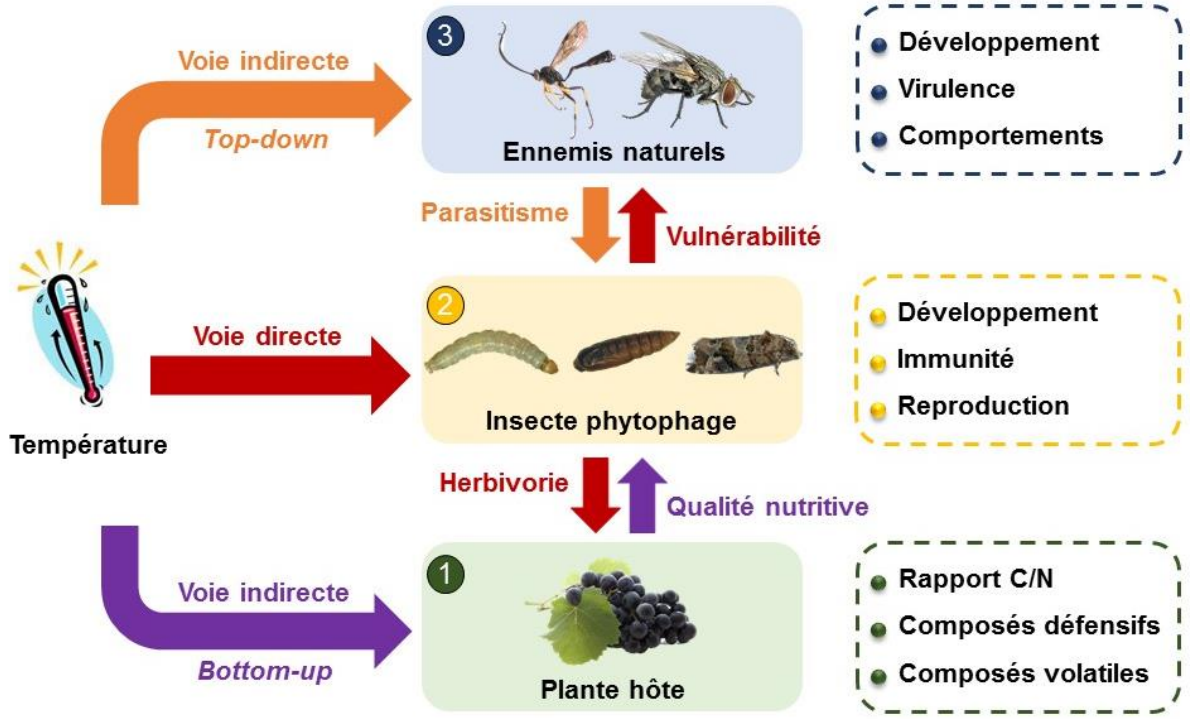


Figure 7 : *Les différentes voies d'action de la température sur l'eudémis* (L. botrana) *dans le contexte écologique des réseaux tritrophiques. La température peut agir par voie directe (en rouge) sur un certain nombre de traits d'histoire de vie du ravageur (2ème niveau trophique), lesquels vont influencer la déprédation exercée par cet insecte sur la plante hôte (1er niveau trophique) et conditionner sa susceptibilité face à ses ennemis naturels (3ème niveau trophique). La température peut aussi agir sur l'eudémis de manière plus subtile, via deux voies indirectes. Par la voie indirecte* « bottom-up » *(en violet), la température va affecter la performance du ravageur via une modification d'un certain nombre de traits de la plante hôte permettant de définir sa valeur nutritive. Par la voie indirecte* « top-down » *(en orange), la température va moduler la pression de parasitisme exercée par les ennemis naturels (parasitoïdes) sur les populations du ravageur.*

4.2. Principaux objectifs de la thèse

L'objectif général de cette thèse est d'approfondir la compréhension des différentes voies d'action de la température sur l'eudémis dans un contexte de réchauffement climatique, en considérant la pluralité de facettes qui caractérise ce phénomène complexe. Elle conjugue un intérêt appliqué, en cherchant à affiner les capacités de prédiction de la dynamique d'abondance future du ravageur et les potentiels dégâts associés sur les cultures, et un intérêt plus fondamental, puisque les différents chapitres constitutifs de cette thèse vont chacun traiter une question nouvelle dans le cadre intellectuel du réchauffement climatique. Les conséquences des différentes facettes du changement climatique sur l'eudémis seront examinées via l'utilisation des méthodes d'imitation du réchauffement climatique présentées dans les sections 3.1., 3.2. et 3.3. de ce chapitre.

Le premier objectif, développé dans le Chapitre III, est d'inspecter les effets d'une augmentation de température moyenne sur la performance larvaire de *L. botrana*, avec une attention principalement centrée sur les traits défensifs impliqués dans la résistance des chenilles face aux parasitoïdes larvaires. L'étude réalisée dans ce chapitre a eu recours à un design expérimental faisant intervenir des régimes constants de différentes températures moyennes, et dont la comparaison s'est révélée informative dans le but de caractériser les réponses des différents traits défensifs des chenilles (développement, morphologie, comportements, immunité) à une augmentation de température moyenne. Ce chapitre attestera non seulement de la grande sensibilité à la température pour la plupart des traits défensifs examinés, mais également d'une forme de variabilité dans les réponses thermiques des différents traits, suggérant des conséquences complexes en termes d'évolution de la vulnérabilité de l'hôte face aux parasitoïdes dans un contexte de changement climatique.

Un niveau de réalisme climatique supplémentaire est incorporé dans le Chapitre IV, qui, grâce au recours à la modélisation climatique, s'intéresse à la réponse d'eudémis à des changements réalistes de température moyenne et d'amplitude des fluctuations journalières survenant à une échelle spatiale relativement fine (échelle locale). En outre, ce chapitre sera constitué par trois études distinctes. La première est exclusivement portée sur la performance larvaire du ravageur, intégrant une batterie

de mesures sur les traits défensifs et budgets énergétiques des chenilles. Elle confirmera, en système fluctuant, la diversité de réponses thermiques mise en exergue avec des régimes constants dans le Chapitre III, et discutera les différences de réponses des traits observées entre systèmes constant et fluctuant. Parallèlement à cette première étude, la seconde étude s'est focalisée sur la performance des adultes, en particulier le potentiel reproducteur de chaque sexe considéré indépendamment. Ainsi, l'originalité de cette étude réside dans sa capacité à évaluer la sensibilité à la température des traits sexuels de chaque partenaire. Les résultats de cette étude plaideront, une fois de plus, en faveur de la considération de la performance sexuelle du mâle en tant que composante intégrante du succès de reproduction de l'espèce. Combinés à ceux obtenus sur la performance larvaire, ces résultats sur la reproduction des adultes permettront de dresser des conclusions intégratives quant aux conséquences du réchauffement climatique sur la performance individuelle et la dynamique des populations d'eudémis. Enfin, la troisième étude du Chapitre IV s'est centrée sur modulation thermique de l'interaction entre les œufs de *L. botrana* et un parasitoïde oophage (*Trichogramma cacoeciae*). La question novatrice alors adressée est de savoir si les conditions thermiques connues par une génération parentale d'hôtes pouvaient influencer la résultante de l'interaction entre les œufs pondus par cette génération et le parasitoïde. L'étude suggérera que de tels effets thermiques parentaux se révèlent être un facteur clé de modulation de l'interaction hôte-parasitoïde, et soulignera l'importance du rôle joué par la plasticité phénotypique transgénérationnelle pour le devenir d'une interaction hôte-parasitoïde dans le contexte du réchauffement climatique.

Le Chapitre V se concentrera sur la réponse des chenilles d'eudémis à une autre facette du changement climatique : l'occurrence d'un événement thermique extrême comme une vague de chaleur. L'étude développée dans ce chapitre vise à approfondir la compréhension des mécanismes potentiellement mis en jeu dans la réponse individuelle et permettant de mitiger les conséquences néfastes de la vague de chaleur en termes de performance. Plus particulièrement, elle explore l'existence de mécanismes compensatoires dépendant de l'alimentation, en cherchant à déterminer si la qualité de la nourriture disponible après la vague de chaleur peut influencer l'éventuelle capacité des chenilles à contrebalancer les effets négatifs induits par l'exposition au stress thermique. L'étude démontrera non seulement que la

qualité de l'alimentation est un facteur déterminant dans la réponse individuelle à la vague de la chaleur, mais que cette influence est placée sous la dépendance du timing d'occurrence de la vague de chaleur durant l'ontogénie de l'insecte, et donc du stade larvaire affecté. Ainsi, cette étude suggérera que les conséquences des vagues de chaleur sur les populations d'insectes sont contingentes au contexte écologique dans lequel ces événements thermiques extrêmes se produisent.

Ces chapitres seront suivis d'une discussion générale, qui se déclinera en un premier volet appliqué cherchant à résumer les différents effets potentiels du réchauffement climatique sur les individus et populations d'eudémis dans le contexte des relations tritrophiques, et un second volet dans lequel seront avancées des pistes de réflexion potentiellement intéressantes pour une compréhension plus approfondie de la réponse des insectes ravageurs au changement climatique.

Chapitre II

Matériel et méthodes général

1. MODÈLE BIOLOGIQUE

1.1. Caractéristiques générales et distribution

L'eudémis de la vigne (*Lobesia botrana*) est un insecte Lépidoptère de la famille des Tortricidae. Elle est souvent appelée « tordeuse de la vigne » (en raison de la particularité qu'ont les chenilles à enrouler les bords des feuilles de vigne autour d'elles au moment de la nymphose) ou « ver de la grappe », dénominations vernaculaires qu'elle partage avec des espèces apparentées comme la cochylis (*Eupoecilia ambiguella*), la pyrale de la vigne (*Sparganothis pilleriana*) ou l'eulia (*Argyrotaenia ljungiana*) (Thiéry, 2005). Le développement des chenilles se compose d'une succession de cinq stades larvaires (du stade L1 au stade L5) avant la métamorphose. Au stade imago, l'eudémis se présente comme un microlépidoptère nocturne, d'une taille de 6-8 mm de long pour une envergure d'une dizaine de millimètres (Fig.8). Les papillons arborent des couleurs ternes, avec des ailes couvertes d'écaille et repliées en toit au-dessus du corps. Un dimorphisme sexuel existe : outre la différence de masse déjà perceptible au stade de chrysalide (les femelles étant de masse plus importante que les mâles), il est possible de sexer sans aucune ambiguïté les individus à l'examen de la partie postérieure de l'abdomen. Les femelles possèdent alors une pigmentation ventrale brunâtre et une gouttière chitinisée de laquelle sort l'ovipositeur, tandis que les mâles se distinguent par une extrémité beaucoup plus longiligne, constituée par deux lèvres jointes recouvertes d'une pilosité importante (Fig.9).

Figure 8 : *Photographies de trois stades de vie d'eudémis* (L. botrana) *: (A) une chenille sur une bractéole de baies de raisin en nouaison, (B) deux chrysalides, avec dimorphisme sexuel de taille déjà apparent (femelle en haut à gauche, mâle en bas à droite) et (C) une femelle adulte, vue de dessous, reconnaissable à la pigmentation brunâtre et la gouttière chitinisée à l'extrémité postérieure de l'abdomen. © F. Vogelweith, K. Muller, C. Manière.*

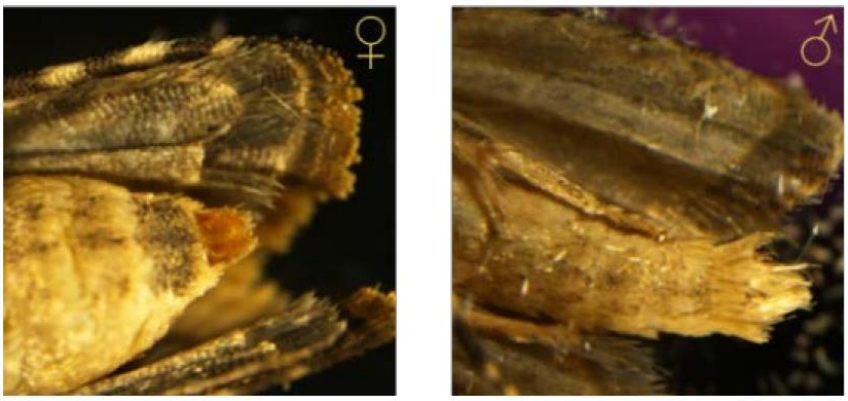


Figure 9 : *Photographies des extrémités abdominales d'une femelle (à gauche) et d'un mâle (à droite) chez l'eudémis* (L. botrana)*. La femelle se distingue par un abdomen plus large, une tâche foncée et une gouttière chitinisée de laquelle sort l'ovipositeur. Le mâle présente lui une extrémité abdominale plus élancée, d'aspect duveteux car recouverte d'une pilosité importante. © K. Muller.*

En ce qui concerne son aire de distribution géographique, l'eudémis est une espèce majoritairement représentée dans les vignobles distribués sur le pourtour du bassin méditerranéen, où elle trouve les environnements chauds et secs propices à son établissement et son développement (Gutierrez et al., 2017; Thiéry, 2005; Varela et al., 2010). L'espèce a également été introduite inopinément dans des zones en dehors de cette aire de répartition originelle, comme en attestent des observations plus ou moins sporadiques au Chili, en Californie, au Japon et en Afrique de l'Est (Gilligan et al., 2011; Gutierrez et al., 2012) (Fig.10A). En France, les premières missions entomologiques attestant de la présence de *L. botrana* sur le territoire sont datées de la fin du XIXème siècle. Deux hypothèses sont avancées pour retracer la/les voie(s) utilisé(e)s par l'espèce pour coloniser le vignoble français (Thiéry, 2005). La première est celle d'une provenance d'Europe centrale et d'une arrivée par l'Allemagne, en témoigne la première observation historique de l'espèce, réalisée en Autriche par Schiffermüller et Denis (1775). La seconde hypothèse est celle d'une voie de colonisation plus méridionale, avec une entrée en France par la Provence. Cette hypothèse est étayée par les préférences écologiques actuelles de l'espèce (chaleur, sécheresse, capacité à exploiter des plantes hôtes d'essence méditerranéenne). L'expansion rapide de l'espèce en France serait liée à la replantation massive de ceps de vigne ayant fait suite à la crise phylloxérique (avec une favorisation des variétés à croissance rapide et à rendement important), ainsi qu'à un agrandissement concomitant de l'étendue des surfaces viticoles (Thiéry, 2005). L'eudémis est

aujourd'hui présente sur presque la totalité du territoire viticole français, avec de plus fortes abondances dans les parcelles du Midi et du Sud-Ouest (Fig.10B).

Dans un contexte de réchauffement climatique, les modèles prédictifs de la dynamique des populations d'eudémis avancent que, en lien avec les conjectures climatiques actuelles, l'abondance des populations de ce ravageur pourrait augmenter dans les secteurs Nord de la zone Euro-Méditerranéenne. En revanche, une réduction de l'abondance de l'insecte devrait être observée dans les portions plus méridionales, où les hautes températures risquent d'affecter négativement ses fonctions vitales et la productivité de la vigne (Gutierrez et al., 2017).

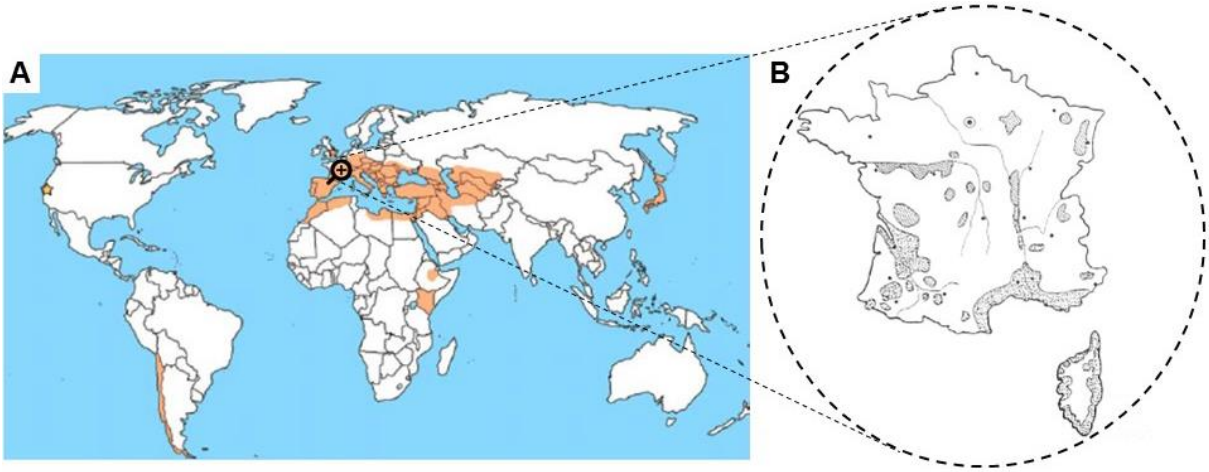


Figure 10 : *(A) Distribution actuelle d'eudémis* (L. botrana) *à l'échelle mondiale (en orangé) et (B) à l'échelle nationale (en grisé). L'étoile indique la présence supposée de l'espèce en Californie, où elle a notamment été observée en 2009. Modifié d'après Varela et al. (2010) et Babi (1990).*

1.2. Biologie et écologie de l'espèce

1.2.1. Cycle biologique

L'eudémis est une espèce plurivoltine capable de réaliser entre deux et quatre générations par an, ce voltinisme étant contrôlé par les conditions thermiques variant selon la latitude. À cet égard, les populations méridionales réalisent un plus grand nombre de générations annuellement que les populations septentrionales (Gutierrez et al., 2017; Martín-Vertedor et al., 2010; Thiéry, 2005). Le cas le plus généralement observé reste celui de trois cycles reproducteurs par an : la première génération, pondue en mai, se développe sur les boutons floraux ; la seconde, apparaissant début juillet, consomme les baies en nouaison ; la troisième, visible entre mi-août et mi-

septembre, s'attaque aux baies matures en fin de véraison (Fig.11). L'eudémis effectue une diapause hivernale au stade de chrysalide, principalement induite par une réduction de la longueur du jour (Roditakis and Karandinos, 2001; Roehrich, 1970; Thiéry, 2005). Cette diapause reste toutefois facultative : certaines populations (Égypte, Israël) ne passent pas l'hiver sous une forme diapausante, et il est également possible d'élever l'espèce sans diapause au laboratoire en maintenant un régime lumineux avec 16 heures de photophase (Thiéry, 2005). Dans les vignobles, les cocons d'hiver sont protégés sous les écorces de ceps, dans le sol ou parfois dans les grappes sèches non vendangées. Au printemps suivant, les adultes émergeant de ces chrysalides hivernantes donneront, après reproduction, naissance à la première génération d'œufs et de chenilles de la saison.

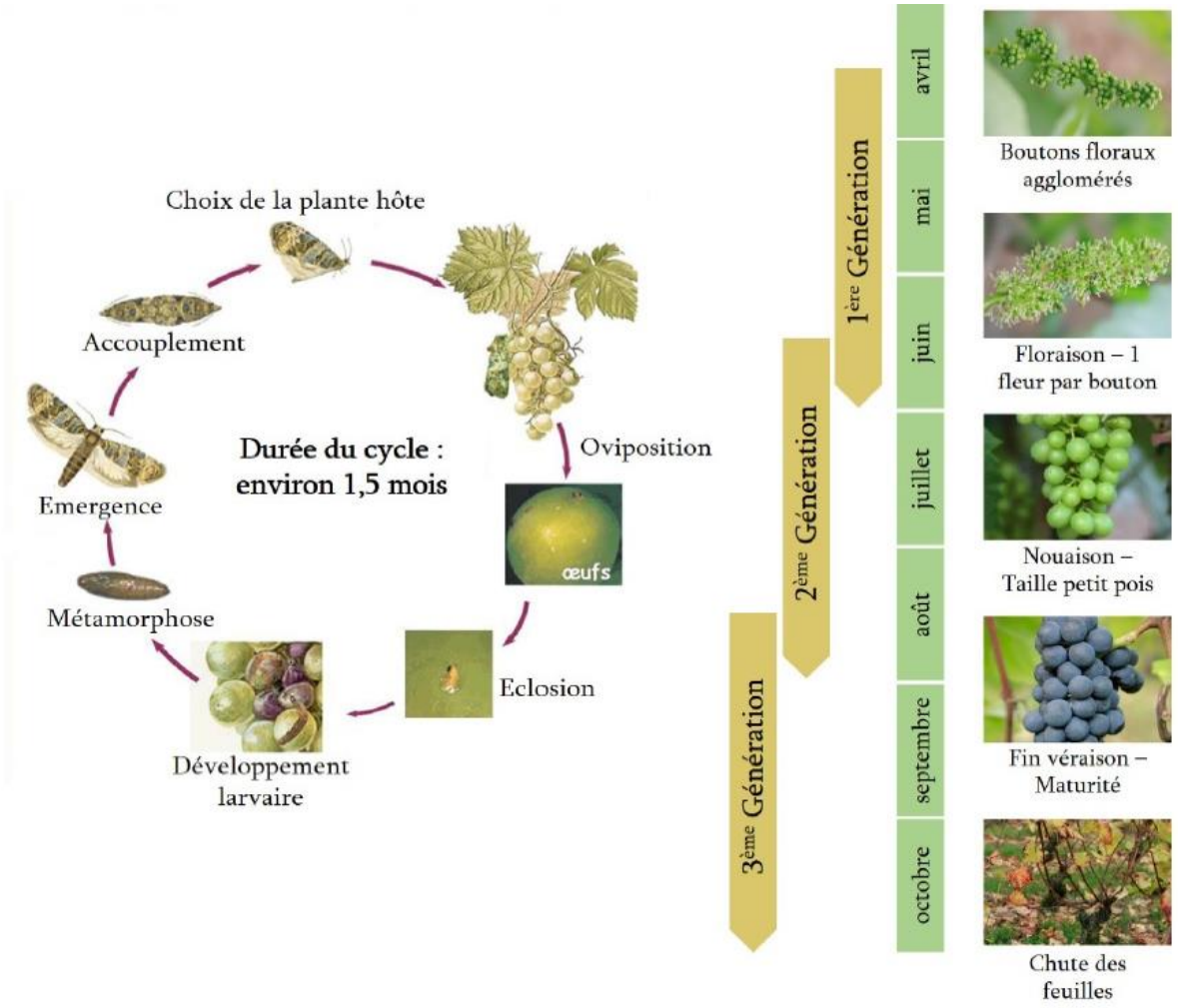


Figure 11 : *Cycle biologique annuel d'eudémis* (L. botrana)*, avec succession de trois générations se développant sur différents stades phénologiques de la plante hôte (fleurs, baies en nouaison, baies matures). La durée du cycle, de même que le nombre de générations réalisées annuellement, varient selon la température environnementale. Un chevauchement partiel des générations dans le temps est possible. Repris d'après Muller (2016).*

1.2.2. Alimentation des larves : relation avec le niveau trophique inférieur

Si elles ne sont pas dérangées par un ennemi naturel (voir la section 4.1.1. de ce chapitre ci-dessous), les chenilles effectuent en règle générale l'intégralité de leur développement au sein de la même inflorescence ou grappe de raisin, dans un nid appelé « glomérule », qu'elles constituent en agglomérant avec de la soie plusieurs boutons floraux ou baies (Thiéry, 2005). L'intense activité d'alimentation des larves, qui s'attaquent exclusivement aux organes fructifères de leur plante hôte, occasionne des dégâts aux cultures relativement importants, faisant de cette espèce l'un des ravageurs les plus problématiques pour l'activité viticole en Europe (Reineke and Thiéry, 2016; Thiéry et al., 2018). Bien que jamais quantifiés, les préjudices économiques engendrés par ce ravageur sont supposés élevés, considérant l'intense déprédation des chenilles sur les baies (une chenille peut attaquer entre 2 et 10 baies au cours de son développement), et les densités qui, dans les vignobles les plus sévèrement touchés, peuvent atteindre 20 à 30 larves par inflorescence (Delbac and Thiéry, 2016). En Grèce par exemple, la perte de rendement imputable à la présence de cette espèce a été chiffrée entre 13.3 et 27% de la production totale en termes de biomasse végétale sur une période de quatre ans (Moschos, 2006). Ces dommages aux récoltes sont induits par voie directe (via consommation des tissus végétaux) et indirecte, car les chenilles exacerbent la susceptibilité de la plante aux maladies fongiques, comme les pourritures grise (*Botytris cinerea*) et noire (*Aspergillus niger*), mais aussi à d'autres insectes ravageurs des fruits comme *Drosophila suzukii* (Cozzi et al., 2006; Reineke and Thiéry, 2016) (Fig.12).

Figure 12 : *Photographies illustratives des dégâts que peuvent engendrer les larves d'eudémis* (L. botrana) *dans les vignes. Ces dégâts peuvent être directs, comme cette baie presque vidée de sa pulpe par une chenille en fin de développement (A). Il existe aussi des dommages indirects puisque, par leurs morsures, les chenilles créent des sites d'entrée dans la plante pour des maladies fongiques, comme ici la pourriture grise causée par le champignon* Botytris cinerea *(B). © CABI International, Y. Bugaret.*

L'eudémis n'est pas strictement inféodée à la vigne : les larves sont polyphages et peuvent se développer sur près d'une trentaine d'espèces de plantes hôtes alternatives (pour beaucoup des espèces méditerranéennes), incluant le daphné garou (*Daphne gnidium*), le romarin (*Rosmarinus officinalis*) et l'olivier (*Olea europaea*) (Stavridis and Savopoulou-Soultani, 1998; Thiéry, 2005; Thiéry and Moreau, 2005). Elle reste toutefois principalement localisée dans les vignobles, qui lui assurent une fourniture en ressources alimentaires suffisamment constante dans le temps et l'espace pour lui permettre de réaliser son cycle biologique dans sa totalité, et ce pour plusieurs générations successives (Thiéry, 2005). D'un point de vue évolutif, le maintien de la polyphagie, malgré la surreprésentation de la vigne comme hôte principal, pourrait s'expliquer par la plus grande valeur nutritive des hôtes de substitution (plantes sauvages) pour le phytophage (Muller et al., 2015b). Effectivement, des études de laboratoire ont démontré que la performance des chenilles (survie, taux de développement, immunité) et des adultes (reproduction, longévité) était plus élevée lorsque les stades immatures étaient nourris avec des plantes hôtes alternatives en comparaison avec une alimentation à base de différents cépages de vigne (Muller et al., 2015b; Thiéry and Moreau, 2005).

Il existe également une variabilité de valeur nutritive non négligeable entre variétés de raisin, avec là aussi des incidences observables tant sur le développement, la croissance et l'immunité des chenilles (Thiéry and Moreau, 2005; Vogelweith et al., 2011) que sur la performance sexuelle des papillons mâles comme femelles (Moreau et al., 2006; Moreau et al., 2007; Muller et al., 2015a). De plus, pour un même cépage de vigne, les différents stades de développement des organes fructifères se distinguent par leur composition chimique, les baies se gorgeant de sucres et d'éléments minéraux au cours de leur développement. Par conséquent, le stade phénologique de la plante hôte est également un facteur clé participant à la modulation de la performance du ravageur via le niveau trophique inférieur (Savopoulou-Soultani et al., 1999; Torres-Vila et al., 1999). Cette considération est d'une importance cruciale dans le contexte du réchauffement climatique, car la hausse des températures ne va pas nécessairement affecter le développement de la vigne et du phytophage dans des proportions égales (Caffarra et al., 2012). Ainsi, le réchauffement pourrait agir par voie indirecte sur la performance d'eudémis, en modifiant son degré de synchronisation

avec la plante hôte, et donc les stades phénologiques desquels chaque génération de chenilles peut se nourrir (Caffarra et al., 2012).

1.2.3. Parasitisme : relation avec le niveau trophique supérieur

Outre une dépendance étroite vis-à-vis de la valeur nutritive du niveau trophique inférieur, la dynamique des populations d'eudémis est également influencée par le degré de contrôle biologique exercé par le niveau trophique supérieur, plus particulièrement la guilde d'insectes parasitoïdes (Castex et al., 2018; Reineke and Thiéry, 2016; Thiéry et al., 2018). En effet, les agroécosystèmes viticoles regorgent d'une diversité entomologique parfois insoupçonnée, illustrée par des relevés conduits récemment dans des vignobles européens et recensant près d'une centaine d'espèces de parasitoïdes susceptibles de s'attaquer à *L. botrana* (Scaramozzino et al., 2017; Scaramozzino et al., 2018; Thiéry et al., 2018). La grande majorité de ces espèces appartiennent à différentes familles de l'ordre des Hyménoptères (parmi lesquelles des Braconidae, Ichneumonidae, Chalcididae, ou encore Trichogrammatidae). Il existe aussi des espèces de Diptères (famille des Tachinidae), dont les mœurs et les voies d'entrée dans l'hémocoele de l'hôte (pour les espèces endoparasites) sont peu documentées.

Presque tous les stades de vie d'eudémis, à l'exception du stade adulte, sont exposés à cette pression de parasitisme. Les œufs sont la cible de plusieurs espèces du genre *Trichogramma*, qu'elles soient naturellement présentes dans les vignobles ou relâchées massivement, depuis les années 1980, comme agents de lutte dans des programmes de contrôle biologique par inondation (Barnay et al., 1999; Barnay et al., 2001; Hommay et al., 2002) (Fig.13A,D). Les taux de parasitisme des œufs induits par l'action de ces insectes auxiliaires sont relativement méconnus et supposés très variables (Thiéry et al., 2018). Dans des vignobles allemands par exemple, les taux naturels de parasitisme causés par le parasitoïde oophage *T. semblidis* peuvent localement atteindre jusqu'à 40-50% des œufs pondus par *L. botrana* et son espèce sœur *E. ambiguella* (Şengonca and Leisse, 1987). En France (Alsace), des valeurs de parasitisme des œufs relativement similaires (35-55%) ont été obtenues à la suite de lâchers inondatifs de deux espèces de parasitoïde oophage (*T. cacoeciae* et *T. evanescens*) dans les champs (Hommay et al., 2002).

Les chenilles constituent l'hôte de nombreuses espèces de parasitoïdes larvaires, parmi lesquelles la mieux connue est *Campoplex capitator* (Hymenoptera : Ichneumonidae) (Fig.13B,E). Cet endoparasitoïde koïnobionte (dont la ponte ne provoque la mort de l'hôte qu'après un certain délai) est visiblement capable de prospecter de grandes surfaces à la recherche d'hôtes (*L. botrana*, *E. ambiguella*) (Xuéreb and Thiéry, 2006). C'est le parasitoïde de chenilles de tordeuses le plus fréquemment observé dans le Sud de la France : l'abondance de cette espèce peut constituer jusqu'à près de 90% de l'effectif total des parasitoïdes émergeant des chenilles d'eudémis attaquées (Xuéreb and Thiéry, 2006). En revanche, l'espèce semble absente de certaines régions viticoles, notamment l'Est de la France (Moreau et al., 2010). Une proportion non négligeable du parasitisme larvaire (pouvant atteindre 30% de l'effectif total des parasitoïdes récoltés après leur émergence des chenilles parasitées) est également réalisée par *Phytomiptera nigrina* (Diptera : Tachinidae), espèce particulièrement représentée dans les vignobles méridionaux, et dont il est attendu que l'aire de répartition s'étende vers le Nord en lien avec le réchauffement (Reineke and Thiéry, 2016; Thiéry et al., 2006) (Fig.13C,F).

Dans un contexte de changement climatique, il est intéressant de noter que les taux de parasitisme larvaire semblent varier *in natura* selon un cline Nord/Sud en France. La pression exercée par les parasitoïdes larvaires sur les populations de chenilles d'eudémis serait plus importante dans les vignobles du Sud que dans ceux du Nord (Vogelweith et al., 2013b). Dans le Sud-Ouest par exemple (Aquitaine), les taux de parasitisme des larves d'eudémis ont varié entre 23 et 53% sur la période 2000-2001, et des valeurs dépassant les 60% (allant jusqu'à presque 90%) ont même été localement observées en 2011 (Vogelweith et al., 2013b; Xuéreb and Thiéry, 2006). *A contrario*, dans le Nord-Est (Alsace et Champagne), les taux de parasitisme larvaire restent souvent inférieurs à 10% (Moreau et al., 2010; Vogelweith et al., 2013b). Il serait toutefois fallacieux d'attribuer ces différences de parasitisme au simple effet de la température moyenne de l'environnement, puisque, pour une même région viticole, une importante variabilité des taux de parasitisme larvaire existe entre cépages. Par exemple, en Aquitaine, les pourcentages de chenilles parasitées en 2011 variaient entre moins de 40% et presque 90% selon les cépages (Moreau et al., 2010; Vogelweith et al., 2013b). De plus, les cépages cultivés ne sont pas les mêmes (ou ne sont pas cultivés en mêmes proportions) entre les vignobles méridionaux et

septentrionaux. Cette importante médiation exercée par le premier niveau trophique (plante hôte) sur l'interaction entre les deux niveaux trophiques supérieurs (ravageur et leurs ennemis naturels) pourrait s'expliquer par les effets remarquables du cépage sur l'immunité des larves (Muller et al., 2015b; Vogelweith et al., 2011). En effet, les chenilles d'eudémis ont, en réponse à la pression exercée par les parasitoïdes larvaires présents dans les vignobles, développé un système défensif notamment caractérisé par un fort investissement dans la barrière immunitaire (immunité basale), visant à empêcher le développement de l'œuf du parasitoïde (Vogelweith et al., 2014). La description des différents traits constitutifs de ce système défensif est présentée dans la section 4.1. de ce chapitre, ci-dessous. L'examen des réponses de ces différents traits défensifs à une augmentation des températures permettra d'évaluer les conséquences du réchauffement climatique sur les capacités de résistance potentielles des chenilles face à leurs parasitoïdes.

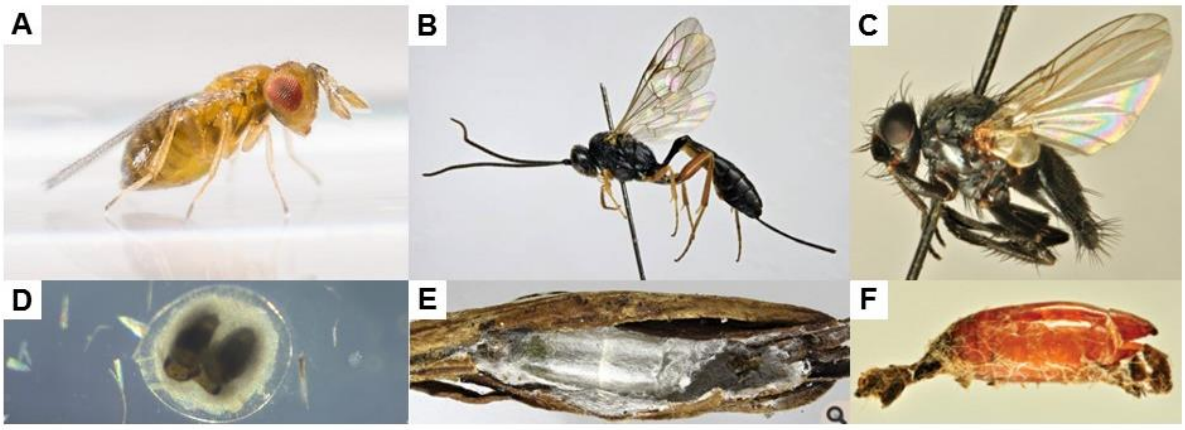


Figure 13 : *Photographies de différents parasitoïdes d'eudémis* (L. botrana) *présents naturellement dans les vignobles. Les espèces du genre* Trichogramma *(A) sont des parasitoïdes oophages notamment relâchés dans le cadre des programmes de lutte biologique par inondation. Le développement du trichogramme se réalise à l'intérieur de l'œuf hôte, et en provoque un noircissement caractéristique au moment de la pupaison (D, avec le cas particulier où deux embryons du parasitoïde* T. cacoeciae *se développent à l'intérieur d'un unique œuf de* L. botrana*). Le parasitoïde larvaire* Campoplex capitator *(B) est identifié comme étant le plus efficace en termes de taux de parasitisme des chenilles d'eudémis (il peut être la cause de près de 90% des cas de chenilles parasitées). La larve de cet endoparasitoïde solitaire koïnobionte provoque la mort de son hôte après avoir tissé un cocon à l'intérieur de la chrysalide de celui-ci (E). Le Diptère* Phytomiptera nigrina *(C) est une autre espèce d'endoparasitoïde koïnobionte susceptible d'infester des chenilles d'eudémis. La femelle pondrait son œuf sur la surface du tégument de l'hôte, que la larve perforerait pour pénétrer dans la cavité corporelle et y débuter son développement. Celui-ci s'achève par la formation d'une pupe accolée au corps de la larve (F). © J. Rosenfeld, C. Iltis et modifié d'après Scaramozzino et al. (2017, 2018).*

1.2.4. La reproduction des adultes

L'eudémis se caractérise par un mode de reproduction dit « sur capital », impliquant que les réserves accumulées par le stade larvaire (le seul à s'alimenter) conditionnent étroitement le succès de reproduction des adultes, qui disposent donc d'une quantité finie de ressources à allouer à la maintenance somatique et la reproduction (Moreau et al., 2006b; Moreau et al., 2007; Muller et al., 2015a). Les adultes sont de mœurs essentiellement crépusculaires, période durant laquelle se produisent aussi bien la recherche active de partenaires que l'accouplement. Les mâles émergent quelques jours (en général deux ou trois) avant les femelles (Moreau et al., 2006; Thiéry and Moreau, 2005; Thiéry et al., 2014a). Cette protandrie présente l'avantage de permettre aux mâles de maximiser le nombre d'opportunités de reproduction au cours de leur brève existence, et d'assurer que les femelles disposent de partenaires sexuels prêts à s'accoupler au moment de leur émergence (Fagerström and Wiklund, 1982; Morbey and Ydenberg, 2001; Wiklund and Fagerström, 1977). Les phéromones sexuelles jouent un rôle prépondérant dans la rencontre des deux partenaires dans des paysages agricoles complexes. Les femelles se postent à l'apex d'un pied de vigne, avant d'émettre un signal phéromonal spécifique, constitué par un bouquet de différentes molécules olfactives (El-Sayed et al., 1999; Thiéry, 2005). Elles adoptent alors un « comportement d'appel », caractérisé par une posture bien particulière : abdomen courbé, plaqué contre le support, ailes légèrement surélevées et glande à phéromones exposée (Fig.14) (Harari et al., 2011; Muller et al., 2015a). Au laboratoire, ce comportement peut être prolongé pendant toute la nuit (durant 8 heures consécutives) si aucun mâle ne se présente, mais cesse immédiatement lors du passage de la scotophase à la photophase (observations personnelles). Ce signal olfactif, perçu par les mâles au niveau de structures sensoriels antennaires, va induire chez ces derniers un vol qualifié d'« anémotactique positif », c'est-à-dire orienté par la direction du vent afin de remonter la piste du faisceau de phéromones jusqu'à la source émettrice (Thiéry, 2005).

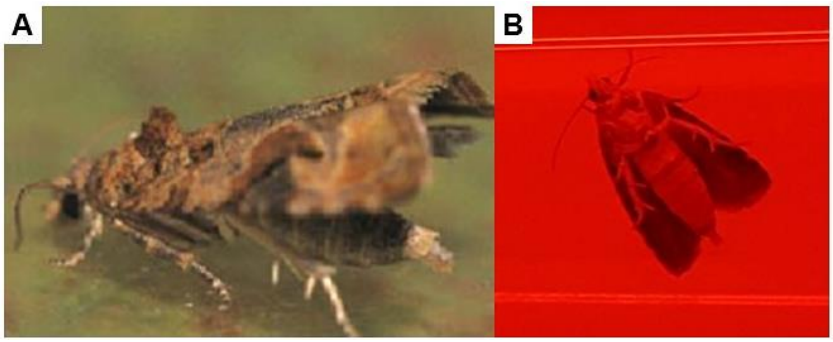


Figure 14 : *Photographies d'une femelle d'eudémis* (L. botrana) *en position d'appel, observée en milieu naturel (A) et au laboratoire sous lumière rouge (B). Les critères permettant de reconnaître sans ambiguïté aucune ce comportement typique sont bien visibles sur les deux images : ailes relevées et glande à phéromones dévaginée à l'extrémité de l'abdomen. © D. Thiéry, C. Manière.*

La rencontre entre les deux partenaires sexuels s'accompagne d'une séquence comportementale caractéristique du mâle, au cours de laquelle ce dernier bat vigoureusement des ailes et multiplie les tentatives d'accouplement en inclinant son abdomen en direction de l'orifice génitale de la femelle (Muller et al., 2015a). Ces tentatives peuvent se solder par un refus de la copulation (rejet du mâle par la femelle) ou aboutir à l'initiation de l'accouplement. Ce dernier est donc, dans une large mesure, conditionné par l'expression d'une série de plusieurs comportements. L'accouplement dure environ 40 minutes, durée nécessaire au transfert complet du spermatophore des voies génitales du mâle vers la bourse copulatrice de la femelle (pour plus de détails sur l'accouplement et la constitution du spermatophore, se référer à la section 4.3. de ce chapitre, ci-dessous). Les premiers œufs sont, en règle générale, pondus dans les 48 heures suivant l'accouplement (Moreau et al., 2016; Thiéry, 2005). Les femelles sélectionnent alors des sites de ponte propices à la survie et au développement de leur progéniture (boutons floraux, baies). Le site d'établissement des chenilles, et donc la localisation des foyers de dégâts aux cultures, sont ainsi majoritairement placés sous le contrôle de la femelle accouplée. Le choix du site de ponte est guidé par un ensemble d'informations aussi bien olfactives, visuelles, tactiles et gustatives (les pattes et l'extrémité de l'ovipositeur des femelles arborent des récepteurs gustatifs et sensoriels lui permettant d'évaluer la qualité du site de ponte) (Maher and Thiéry, 2004a; Maher and Thiéry, 2004b; Maher et al., 2006). Les œufs sont pondus un par un et, lorsque la disponibilité en sites de ponte le permet, la femelle favorise la dispersion de ses œufs afin de réduire la compétition alimentaire entre jeunes larves. Ce comportement est régulé par la présence de marqueurs chimiques sur la surface

des œufs (Thiéry, 2005). Dans les quelques heures qui suivent la sortie de leur œuf, les chenilles perforent les tissus végétaux de l'organe fructifère à l'intérieur duquel elles vont réaliser leur développement.

2. CONDITIONS D'ÉLEVAGE ET MÉTHODE DE RÉCOLTE DES INDIVIDUS

Tous les individus utilisés au cours de ces travaux de thèse proviennent d'une souche artificielle d'eudémis, initialement constituée par un stock de 3500 individus sauvages collectés en 1998 dans un vignoble Sauternais (Château Lafaurie-Peyraguey, Aquitaine), et depuis maintenue à raison d'une dizaine de générations par an à l'INRA de Bordeaux (UMR 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble). Une fois par an en moyenne, cette population de laboratoire est enrichie de plusieurs centaines d'individus sauvages, échantillonnés dans des vignobles environnants, dans le but de préserver un certain niveau de diversité génétique. Les adultes de ce stock sont maintenus dans des cages d'accouplement (30 x 60 x 30 cm) à des densités relativement importantes (entre 200 et 300 individus par cage) afin d'assurer une production en œufs et jeunes larves suffisante pour satisfaire le besoin en individus des expériences (Fig.15). L'élevage est conservé au laboratoire, dans des conditions abiotiques contrôlées (température : 21 ± 1°C ; humidité relative : 60 ± 10% ; photopériode : 16 heures de jour, 1 heure de crépuscule et 7 heures de nuit ; luminosité : 600 lux pendant la photophase, 100 lux au crépuscule).

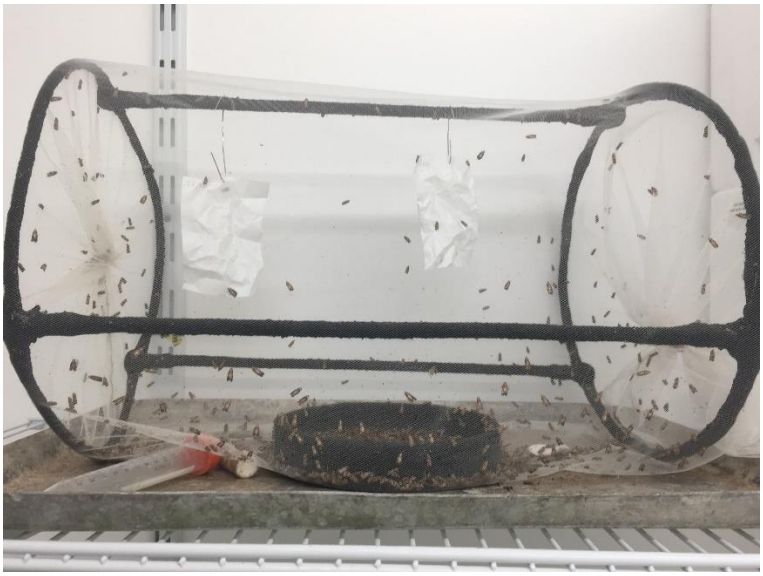


Figure 15 : *Photographie d'une cage d'accouplement pour adultes d'eudémis* (L. botrana)*, avec les papiers de ponte suspendus, utilisés pour récolter les œufs et jeunes larves. © A. Rathéry.*

Des morceaux de papier ciré (10 x 7 cm), préalablement froissés, sont suspendus à l'intérieur de la cage d'accouplement afin d'offrir une surface propice à l'oviposition pour les femelles accouplées. Tous les trois jours en moyenne, ces supports de ponte sont récoltés, renouvelés, et placés dans des boîtes en polyéthylène (12 x 9 cm). Ces boîtes sont recouvertes d'un voile humide afin de minimiser les risques de dessiccation des œufs. Dans un délai de moins de 24 heures après leur émergence des œufs, les jeunes larves sont collectées avec un pinceau fin et déposées individuellement dans des tubes Eppendorf de 2 mL, remplis avec le milieu artificiel classiquement utilisé dans les procédures d'élevage au laboratoire de cette espèce (composition du milieu pour 1000 mL : 1000 mL d'eau, 15 g d'agar bactériologique, 86.6 g de farine de maïs, 41.3 g de germes de blé, 45.5 g d'extrait de levure de bière, 6 g d'acide ascorbique, 3.4 g de sels de Wesson, 0.32 g de fongicide Scala®, 2.7 g d'acide benzoïque, 2.8 g de Nipagine® et 5 mL d'éthanol à 95%) (Thiéry and Moreau, 2005). Les bouchons des tubes d'élevage sont percés pour permettre une circulation d'air et les tubes sont recouverts d'un carré de tissu afin d'empêcher la fuite des chenilles. Cette procédure d'élevage individuel dans des tubes de milieu nutritif présente le double avantage d'assurer une survie importante des jeunes larves jusqu'au stade adulte et d'éviter tout biais expérimental lié à la compétition alimentaire entre chenilles, qui peut sensiblement affecter la performance des stades ultérieurs chez cette espèce (Thiéry et al., 2014b). Le développement des individus utilisés au cours des expériences se réalise dans des chambres climatiques (ST 2/2 BASIC, Pol-Eko Aparatura), à l'intérieur desquelles les différents régimes thermiques décrits ci-dessous ont été simulés (température ± 0.1°C, humidité relative : 50 ± 10%, photopériode : 16 heures de jour, 8 heures de nuit, luminosité : 650 lux).

3. RÉGIMES THERMIQUES

3.1. Cas des régimes constants (Chapitre III)

La première approche développée au cours de cette thèse et présentée dans le Chapitre III fait intervenir des régimes thermiques constants de température moyenne égale à 22, 25 ou 28°C. Ces températures sont choisies car représentatives de la variabilité de températures mensuelles moyennes que peut rencontrer *L. botrana* durant la période estivale (Juillet-Août), en particulier dans les portions méridionales

de son aire de distribution en France (Perpignan : 42°69′N ; 2°90′E) (www.meteofrance.com). En accord avec les objectifs fixés dans ce chapitre, l'utilisation de régimes constants se révèle comme une méthode conceptuellement simple et intuitive pour caractériser les réponses de différents traits des chenilles à une augmentation réaliste de la température moyenne dans le contexte du réchauffement climatique.

3.2. Cas des régimes fluctuants (Chapitre IV)

Un degré de réalisme écologique et climatique supplémentaire est incorporé dans le Chapitre IV, via l'intégration de patterns réalistes de fluctuations thermiques journalières et leur altération par le réchauffement climatique. L'approche développée dans ce chapitre consiste à comparer la performance des chenilles et adultes de *L. botrana* entre deux régimes thermiques fluctuants, représentatifs des conditions actuelles et futures dans les vignobles bourguignons pendant la période estivale (15 Juillet-15 Août), durant laquelle l'espèce (alors à sa deuxième génération annuelle) est particulièrement active (Barnay et al., 2001; Martín-Vertedor et al., 2010).

Le régime simulant une journée estivale « moyenne » actuellement observée en Bourgogne (station météorologique Longvic-Dijon : 47,27°N; 5,09°E) est établi à partir de données de températures horaires, collectées *in situ* durant 20 années consécutives (entre 1995 et 2014). Dans le but de retranscrire avec une certaine fidélité les variations de température se produisant à l'échelle d'une journée, ce régime « actuel » est décomposé en six paliers de température d'une durée de 4 heures chacun. La température de chaque segment est calculée comme la valeur moyenne sur les 30 jours (15 Juillet-15 Août) et les 20 années (1995-2014) de données thermiques *in situ*.

Le régime actuel est comparé à un régime « futur », cherchant, au travers de la modélisation climatique, à simuler l'impact local du changement climatique sur les environnements thermiques des vignobles bourguignons. Ce régime futur a été établi en sollicitant l'expertise de climatologistes. Il est défini de manière à reproduire les conditions thermiques pouvant être rencontrées d'ici la fin de ce siècle (horizon 2081-2100), au cours d'une journée estivale future « moyenne ». À l'instar du régime actuel, le régime futur est constitué par un cycle thermique journalier comprenant six paliers

de température d'une durée de 4 heures chacun. Le régime futur est défini comme la moyenne de six simulations climatiques de haute résolution spatiale (8 km de largeur de maille), en sélectionnant le scénario d'émissions de gaz à effet de serre le plus pessimiste (RCP 8.5). Ce scénario socio-économique prédit la plus grande valeur de forçage radiatif à la surface de la terre (c'est-à-dire une différence entre rayonnement absorbé et rayonnement réfléchi à la surface de la Terre très largement positive), en lien avec d'importantes concentrations atmosphériques futures en gaz à effet de serre (IPCC, 2014). Les six simulations réalisées diffèrent par le couple de modèles climatiques qu'elles mettent en jeu. En effet, chacune implique un modèle de circulation général dont les prédictions sont recalculées à une échelle spatiale plus fine à l'aide d'un modèle climatique régional de maille spatiale inférieure (méthode de « *dynamical downscaling* ») (Harris et al., 2014; Jacob et al., 2014; Taylor et al., 2012) (Fig.16). D'après cette méthode de modélisation du climat à une échelle locale, le réchauffement climatique pourrait se traduire, dans les vignobles bourguignons, par une augmentation de température moyenne et une légère augmentation de la variabilité thermique intra-journalière. En effet, les régimes actuel et future diffèrent à la fois par leur température moyenne (actuel : 20.5°C, futur : 25.8°C) et leur amplitude thermique journalière (actuel : 8.5°C, futur : 9.1°C) (Fig.17).

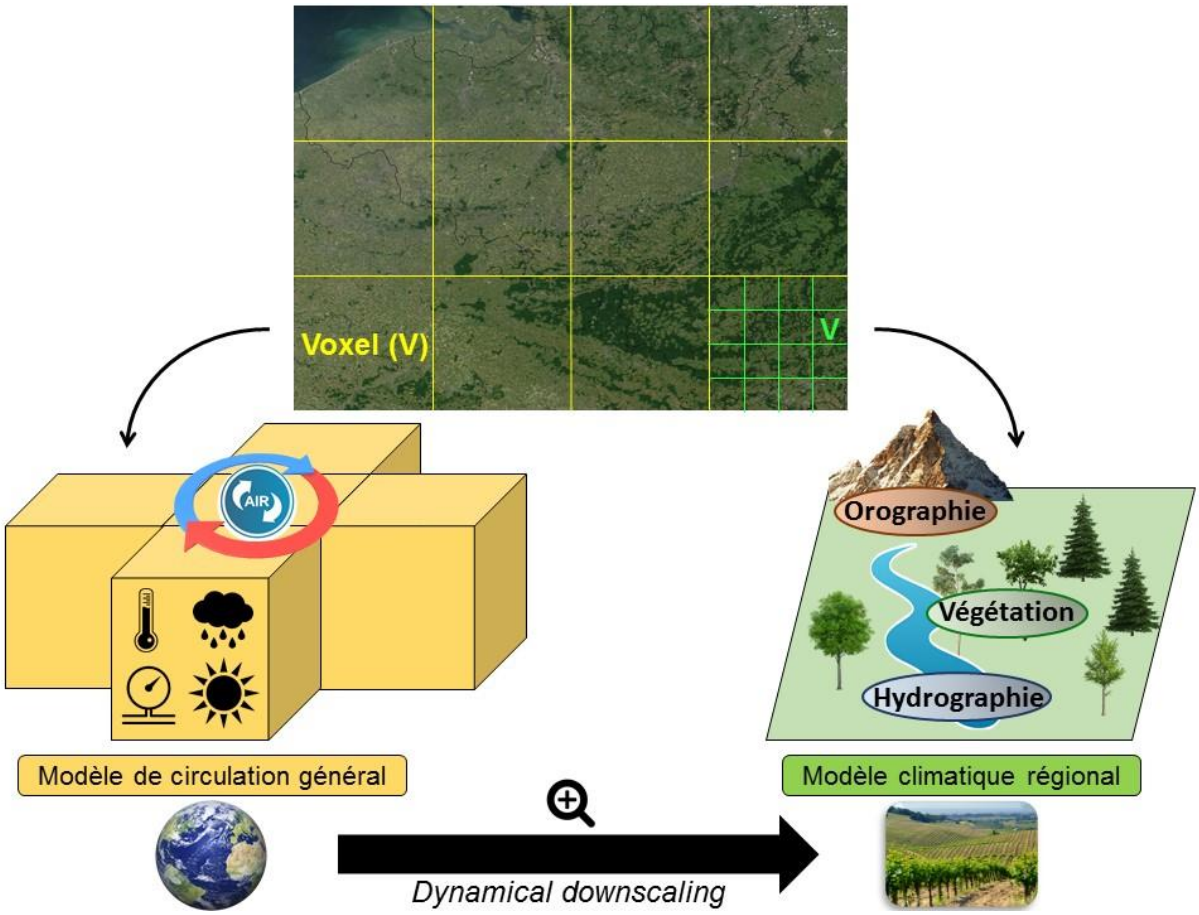


Figure 16 : *Principe de la modélisation climatique avec méthode de* « dynamical downscaling » *utilisée pour conjecturer l'évolution des climats à une échelle régionale/locale. Les projections climatiques sont dérivées de modèles qui partitionnent l'atmosphère en cubes adjacents et superposés appelés voxels. Chaque voxel est défini par les valeurs d'un certain nombre de paramètres physiques de l'air (température, hygrométrie, pression atmosphérique…). Ce sont les différences de ces caractéristiques physiques entre voxels qui vont régir, au travers d'équations physiques, les échanges de masses d'air entre voxels et donc la dynamique d'évolution du climat dans le temps. Les caractéristiques des voxels sont donc dynamiques dans le temps, et permettent aux modèles de tourner en totale autonomie. Il existe plusieurs catégories de modèles climatiques, qui diffèrent notamment par la résolution spatiale de leur maillage et donc le volume des voxels. La méthode de* « dynamical downscaling » *consiste à partir de projections climatiques fournies par des modèles de circulation généraux (maillage jaune), utiles pour prédire l'évolution du climat à une échelle spatiale relativement grossière (avec une largeur de maille de l'ordre de plusieurs centaines de kilomètres). Les projections données par ces modèles de circulation généraux sont recalculées en étant intégrées dans des modèles climatiques régionaux (maillage vert), d'une résolution spatiale beaucoup plus fine (largeur de maille de l'ordre de quelques kilomètres). Ainsi, les modèles climatiques régionaux permettent d'intégrer la manière dont des processus climatiques perceptibles uniquement à une faible échelle spatiale et reliés aux facteurs locaux (topographie, végétation, hydrographie…) peuvent modeler le climat et son évolution à cette échelle fine, fournissant des projections climatiques pertinentes pour les études en écologie.*

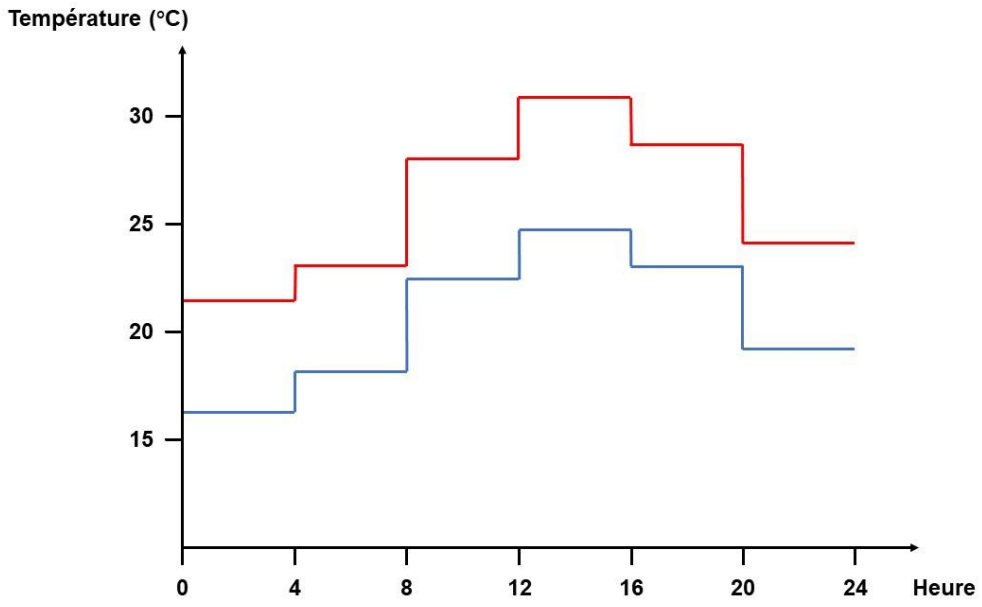


Figure 17 : *Cycles thermiques journaliers des deux régimes fluctuants utilisés dans le Chapitre IV : le régime représentatif des conditions thermiques estivales actuelles en Bourgogne (bleu), et le régime simulant les conditions thermiques estivales futures prédites pour la fin du siècle (rouge), sous le postulat du scénario socio-économique RCP 8.5 et d'après six simulations climatiques.*

3.3. Cas d'une vague de chaleur (Chapitre V)

Le Chapitre V porte sur la réponse des chenilles d'eudémis à une vague de chaleur survenant à différentes étapes du développement larvaire. Cet événement thermique extrême est simulé au laboratoire via une augmentation ponctuelle (durant deux jours consécutifs) de 5°C de la température moyenne, sans modification de l'amplitude des fluctuations thermiques, par rapport au régime futur décrit dans la section 3.2. (voir le paragraphe ci-dessus) et choisi comme témoin. Ainsi, le régime thermique associé à la vague de chaleur présente une température moyenne de 30.8°C et une amplitude thermique journalière de 9.1°C. Cette méthode d'imitation expérimentale d'une vague de chaleur s'accorde avec des définitions climatologiques et écologiques précédemment utilisées pour caractériser un tel phénomène météorologique. D'un point de vue climatique, elle remplit le critère d'une « période d'au moins un jour durant lequel la température maximale dépasse 35°C », puisque le cycle journalier du régime associé à la vague de chaleur atteint une température maximale de 35.5°C pendant les quatre heures les plus chaudes de la journée (Anderson and Bell, 2011; Tan et al., 2006). D'un point de vue écologique, une hausse temporaire de 5°C de la température

moyenne a déjà été choisie comme manière de mimer une vague de chaleur dans des études précédentes (Beetge and Krüger, 2019; Chiu et al., 2015). De plus, la vague de chaleur ainsi simulée devrait avoir des incidences profondes sur la performance des chenilles d'eudémis, puisque les conditions thermiques rencontrées durant cet épisode de chaleur excèdent l'optimum thermique pour plusieurs fonctions biologiques chez cette espèce (en particulier pour une population de laboratoire), comme le développement larvaire (28-30°C) et la survie larvaire (20-25°C) (Gutierrez et al., 2012).

4. MESURES DES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE DU RAVAGEUR

4.1. Traits défensifs des chenilles

4.1.1. Comportements de défense

Le système défensif des chenilles d'eudémis fait intervenir une composante comportementale prépondérante, dont la fonction est d'empêcher l'oviposition du parasitoïde (Greeney et al., 2012; Vogelweith et al., 2014). Les mesures comportementales sont toutes réalisées au cinquième et dernier stade larvaire (L5), chez lequel les défenses comportementales sont les plus manifestement exprimées. Elles se focalisent sur une séquence de trois comportements défensifs (nommés « *flee* », « *twisting* » et « *dropping* ») supposés intervenir dans la défense des chenilles contre une tentative d'oviposition d'un parasitoïde larvaire en milieu naturel (Vogelweith et al., 2014).

Le premier comportement de la séquence, qualifié de « comportement de fuite » (« *flee* »), renvoie à la capacité des chenilles à fuir un ennemi naturel. Ce comportement est supposé survenir avant l'attaque du parasitoïde et, de ce fait, son expression ne nécessite pas de stimulus tactile comme décrit ci-dessous. Le degré d'expression du comportement de fuite est quantifié en mesurant la vitesse de déplacement des chenilles sur une feuille quadrillée (après 30 secondes d'acclimatation) (Fig.18A).

Le second comportement, appelé « comportement de torsion » (« *twisting* »), est spécifiquement induit lors du contact physique entre le tégument de l'hôte et l'ovipositeur du parasitoïde. Il se caractérise par une séquence de torsions rapides et

répétées du corps de la chenille. Une attaque de parasitoïde est simulée en touchant le corps de la larve, en partie abdominale dorsale, avec un pinceau fin préalablement humidifié, ce qui permet de standardiser l'intensité et le nombre de stimuli déclenchant un tel comportement. La réponse de la chenille est enregistrée et les vidéos sont analysées afin de déterminer le nombre total de torsions réalisées après quatre touches de la pointe du pinceau (Fig.18B).

Le troisième comportement, ou « comportement de chute » (« *dropping* »), agit comme la dernière ligne de défense comportementale de la chenille face à l'attaque d'un parasitoïde. Si aucun des deux comportements précédemment décrits ne parvient à repousser la tentative de ponte du parasitoïde, alors la chenille quitte le patch infesté en tombant et tissant un fil de soie pour pouvoir le regagner une fois le parasitoïde éloigné (ou rejoindre une autre grappe). Le coût représenté par l'expression de ce comportement est inhérent à la production du fil de soie. L'investissement des chenilles dans l'expression du comportement de « *dropping* » est évalué en mesurant la longueur du fil de soie, après avoir installé l'individu au sommet d'une potence et en avoir forcé la chute via contacts répétés avec la pointe humidifiée d'un pinceau, comme mentionné dans le paragraphe précédent (Fig.18C).

Dans toutes les expériences, les tests comportementaux sont conduits à une température environnementale strictement identique à la température moyenne du régime thermique duquel l'individu testé était originaire. Cette procédure permet d'intégrer simultanément les effets thermiques de long terme (températures connues par l'organisme au cours de son développement) et de court terme (température prévalant au moment de l'expression d'un comportement) contribuant à la modulation d'un comportement particulier (Abram et al., 2017).

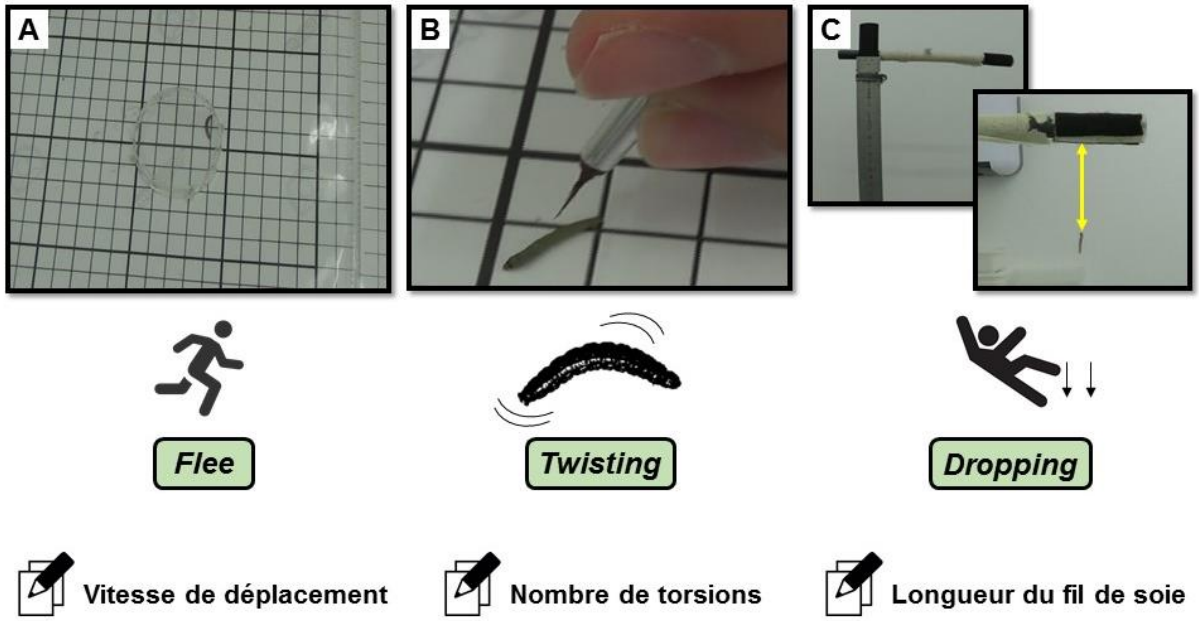


Figure 18 : *Photographies illustratives des trois mesures comportementales réalisées. Le comportement de fuite face à un parasitoïde, ou* « flee » *(A), est estimé en mesurant une vitesse de déplacement (nombre de lignes franchies par minute sur une feuille quadrillée). Le comportement de torsion, ou* « twisting » *(B), est quantifié en décomptant le nombre de torsions réalisées par les chenilles en réponse à une simulation d'attaque de parasitoïde (touche en partie dorsale avec la pointe humidifiée d'un pinceau). Le comportement de chute, ou* « dropping » *(C), est approximé par la longueur du fil de soie tissé par la chenille au cours de sa chute d'une potence (double flèche jaune), après une attaque simulée de parasitoïde. © C. Iltis.*

4.1.2. Effecteurs immunitaires

Les capacités des chenilles à tuer un œuf de parasitoïde injecté dans l'hémocoele sont estimées par l'intermédiaire de deux mesures immunologiques classiquement réalisées dans les études portant sur les interactions hôte-parasitoïde (Carton et al., 2008; Meng et al., 2016; Poyet et al., 2013; Vogelweith et al., 2014). La première de ces deux mesures est la charge hémocytaire de l'hémolymphe, les hémocytes étant des cellules immunitaires aux fonctions diverses, circulant dans l'hémolymphe des insectes et s'agglomérant autour d'un agent infectieux au cours du processus d'encapsulation (Lavine and Strand, 2002). La seconde mesure est l'activité enzymatique du système phénoloxidase/prophénoloxidase. La phénoloxidase est une enzyme qui, une fois sécrétée par les hémocytes, catalyse les réactions biochimiques intervenant au cours du processus de mélanisation visant à séquestrer et à neutraliser l'œuf de parasitoïde dans une capsule de mélanine (Cerenius and Soderhall, 2004; González-Santoyo and Córdoba-Aguilar, 2012). Il est fait fréquemment mention de « système phénoloxidase/prophénoloxidase » car, dans un échantillon d'hémolymphe,

une fraction seulement de la phénoloxidase présente une conformation naturellement fonctionnelle. L'autre partie du pool enzymatique – la prophénoloxidase – est un précurseur inactif de la phénoloxidase stocké dans les hémocytes et l'hémolymphe (Cerenius and Soderhall, 2004). Ainsi, les mesures sont réalisées de manière à discriminer l'activité enzymatique « efficace », naturellement présente sous forme active dans l'échantillon d'hémolymphe (activité de la phénoloxidase) et l'activité potentielle totale de cet échantillon (activité totale de la phénoloxidase), obtenue en activant le stock de prophénoloxidase grâce à l'adjonction de chymotrypsine.

Pour chaque individu, les mesures immunitaires sont réalisées au stade L5, sur un échantillon d'hémolymphe prélevé par ponction dans la partie postérieure dorsale de l'abdomen et dilué dans un tampon salin (composition pour 1000 mL : 8.74 g de NaCl, 1.78 g de Na_2HPO_4, 1000 mL d'eau distillée, pH = 6.5). Une partie de l'échantillon est déposée sur une cellule de Neubauer et analysée sous microscope à contraste de phase, afin d'évaluer la charge hémocytaire (Fig.19A). L'autre partie de l'échantillon est conservée au congélateur (-80°C) pour les mesures d'activité du système phénoloxidase/prophénoloxidase, effectuées d'après la méthode de spectrophotométrie décrite par Vogelweith et al. (2011). Cette méthode repose sur une mesure de vitesse de conversion de la L-Dopamine en dopamochrome par l'action de la phénoloxidase. L'activité enzymatique est estimée par mesure de la pente maximale de la courbe d'absorbance dans sa partie linéaire initiale, c'est-à-dire la vitesse maximale de transformation du substrat enzymatique (Fig.19B).

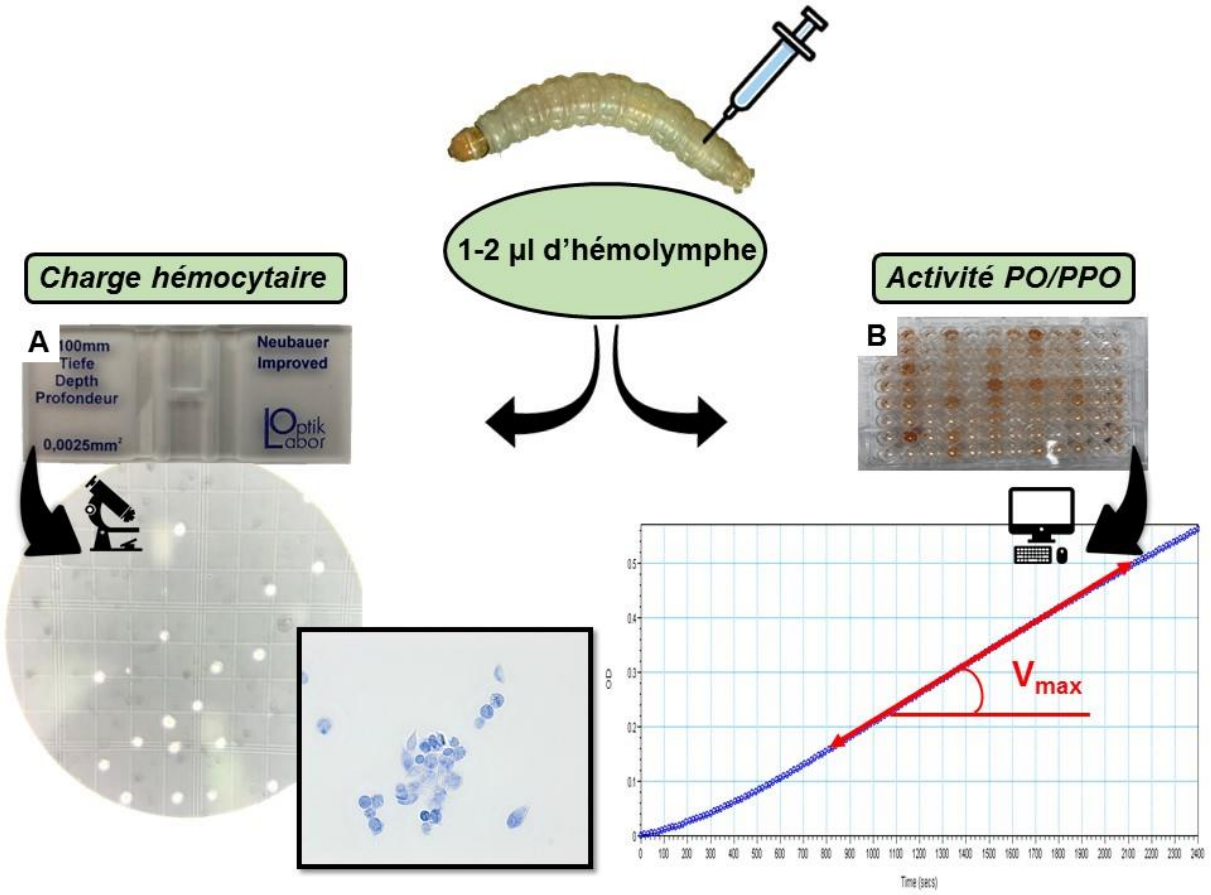


Figure 19 : *Photographies illustratives des deux mesures immunologiques réalisées. Un échantillon d'hémolymphe est prélevé dans la partie dorsale postérieure de l'abdomen chez des chenilles en fin de développement larvaire (stade L5). Sur cet échantillon est mesurée (A) la charge hémocytaire, via comptage à l'aide d'une cellule de Neubauer placée sous microscope optique à contraste de phase, et (B) l'activité du système phénoloxidase (PO)/prophénoloxidase (PPO), via méthode de spectrophotométrie permettant d'extraire la vitesse maximale de transformation du substrat enzymatique (V_{max}, en rouge), correspondant à la pente de la portion linéaire initiale de la courbe d'absorbance. © G. Gamb, C. Wichlacz.*

4.2. Réserves énergétiques (chenilles et papillons)

Les dosages énergétiques sont réalisés sur deux stades de vie. D'une part, ils sont conduits sur des chenilles en fin de développement larvaire (stade L5), dans le but de quantifier les réserves énergétiques stockées via l'alimentation et pouvant être allouées aussi bien à différentes fonctions somatiques et de maintenance qu'à la reproduction ultérieure de l'adulte. D'autre part, ils se portent sur des adultes peu de temps (moins de 12 heures) après leur émergence, ce qui permet d'évaluer les budgets énergétiques des individus après la métamorphose imaginale, processus induisant une profonde modification de l'état énergétique de l'individu chez les insectes holométaboles, aussi bien d'un point de vue quantitatif (pertes énergétiques) que

qualitatif (modification des proportions relatives des différentes molécules de réserves) (Llandres et al., 2015; Merkey et al., 2011).

Toutes les mesures énergétiques sont réalisées en suivant la méthode de spectrophotométrie mise au point par Foray et al. (2012), qui se concentre sur les quatre compartiments énergétiques majeurs présents chez les insectes : protéines, lipides, glycogène et sucres libres (Fig.20). Un homogénat est obtenu en broyant les individus à l'aide de billes en inox dans un tampon (composition : 100mM de phosphate de monopotassium (KH_2PO_4), 1mM de dithiothréitol (DTT), 1mM d'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), pH = 7.4). Des sous-échantillons de ce lysat sont prélevés afin d'estimer la teneur corporelle en chaque métabolite énergétique. Les protéines solubles sont révélées à l'aide d'un kit de dosage biochimique basé sur la méthode de Bradford (DC Protein Assay kit, Bio-Rad). Pour les lipides, la coloration est rendue possible grâce à une solution de vanilline, tandis que le glycogène et les sucres libres sont détectés avec une solution d'anthrone. Les valeurs de concentration des échantillons en chaque grand type de molécules énergétiques sont déterminées à l'aide d'une gamme étalon établie à partir de différentes concentrations d'une molécule standard (globuline sérique bovine pour les protéines, trioléine pour les lipides, glucose pour le glycogène et les sucres).

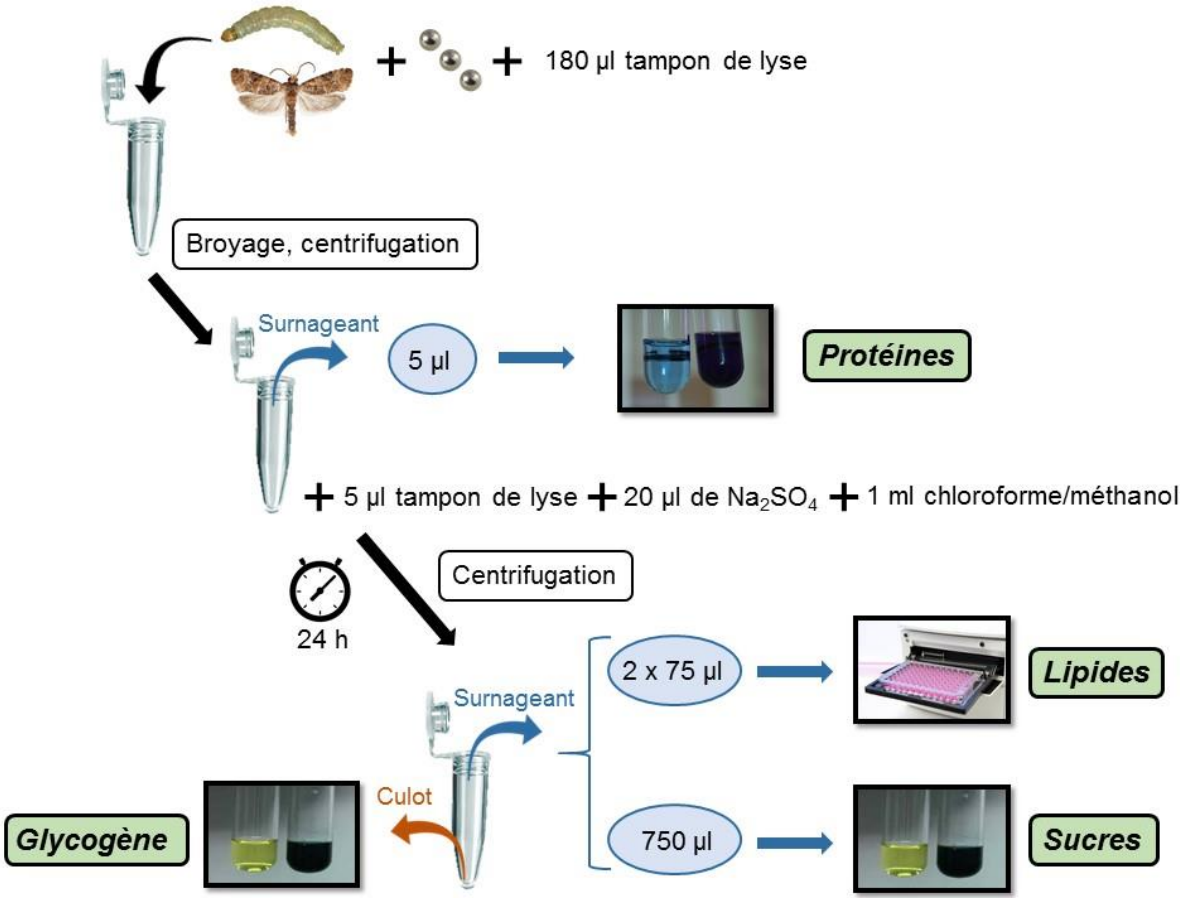


Figure 20 : *Schéma récapitulatif de la procédure générale utilisée lors des dosages par spectrophotométrie des réserves énergétiques des chenilles ou papillons d'eudémis* (L. botrana)*. Les individus sont broyés dans un tampon de lyse à l'aide de billes en inox. Le lysat est centrifugé, puis 5 µl de surnageant sont prélevés pour les mesures de teneur en protéines à l'aide de la méthode de Bradford (lecture d'absorption à 750 nm). Après ajout de tampon de lyse, sulfate de sodium (Na_2SO_4) et une solution de chloroforme méthanol (1:2 v/v), les échantillons sont laissés à température ambiante pendant 24 heures puis centrifugés. Deux volumes de surnageant (75 µl) sont prélevés pour les mesures de teneur en lipides grâce à une solution de vanilline (lecture à 525 nm), et un volume de 750 µl pour les mesures de teneur en sucres libres avec une solution d'anthrone (lecture à 625 nm). Le culot est utilisé pour estimer la teneur de l'échantillon en glycogène avec une solution d'anthrone (lecture à 625 nm).*

4.3. Reproduction des adultes

4.3.1. Procédure générale d'accouplement

Les expériences sont conduites de manière à caractériser l'effet spécifique de la température sur la qualité de chaque partenaire sexuel. Une telle discrimination est rendue possible via une procédure d'accouplement faisant intervenir des individus « standards » comme partenaires sexuels pour les individus « testés » (pour une procédure similaire, voir Muller et al. 2015). Ainsi, des individus testés issus des incubateurs (élevés à différentes températures) sont accouplés avec des individus

standards originaires de l'élevage et tous maintenus sous les mêmes conditions de laboratoire (voir la section 2 de ce chapitre, ci-dessus). En tant qu'estimateurs de la masse des adultes, les masses des chrysalides de tous les individus (standards et testés) sont pesées et intégrées comme covariables dans les analyses statistiques. Les accouplements se réalisent dans des tubes en verre (10 x 15 cm) fermés par des bouchons en coton, et en environnement contrôlé visant à reproduire les conditions crépusculaires durant lesquelles cette espèce se reproduit en milieu naturel (température : 23.1 ± 0.5°C ; humidité relative : 60 ± 5% ; luminosité : 100 lux). Une procédure de sélection s'applique à tous les individus utilisés au cours de ces expériences, aussi bien pour les individus testés que pour leur partenaire standard. Cette procédure consiste à ne retenir que les individus vierges et âgés de 24 heures, permettant ainsi de standardiser l'âge et le statut reproducteur, deux facteurs connus pour influencer les traits sexuels des mâles (volume du spermatophore) comme ceux des femelles (nombre d'œufs pondus, taux d'éclosion) (Muller et al., 2016a; Torres-Vila et al., 2002).

Les expériences de reproduction s'étendent sur une durée de 3 heures (de 16h30 à 19h30), car la latence avant l'accouplement chez cette espèce n'excède pas 3 heures dans des cas de tests de non-choix comme ceux réalisés (un seul individu standard proposé à chaque individu testé) (Muller et al., 2016b). Un suivi régulier des accouplements est réalisé, à raison d'une inspection toutes les 15 minutes. Chez *L. botrana*, le contact des orifices génitaux au cours de l'accouplement est réalisé par le mâle, en courbant son abdomen en direction de l'orifice génital de la femelle (Fig.21). Ce contact est maintenu pendant environ une quarantaine de minutes, durée requise pour le transfert complet du matériel spermatique du mâle vers la femelle (Muller et al., 2015a; Muller et al., 2016a; Muller et al., 2016b). Une fréquence d'une visite toutes les 15 minutes permet donc d'assurer la détection de tous les accouplements effectifs. Les individus pour lesquels aucun contact génital n'est observé durant les 3 heures d'expérience sont considérés comme non accouplés à l'issue de la nuit.

Figure 21 : *Photographie d'un accouplement d'eudémis* (L. botrana) *(femelle à gauche, mâle à droite) observé sous lumière rouge. © G. Gamb.*

4.3.2. Performance sexuelle de la femelle

Dans le cas où l'individu testé est une femelle accouplée avec un mâle standard, le mâle est immédiatement retiré du tube à l'issue de l'accouplement et la femelle est laissée à l'intérieur de celui-ci. Le tube est ensuite placé dans l'incubateur programmant le régime thermique duquel est originaire la femelle, ainsi la ponte se produit sous les mêmes températures que celles rencontrées par la femelle au cours de son développement. Les femelles sont approvisionnées quotidiennement en eau via une légère humidification du bouchon de coton scellant le tube. La ponte est suivie une fois par jour, au moment de la supplémentation en eau. La femelle dépose ses œufs, de forme lenticulaire, sur les parois du tube. La ponte a lieu principalement la nuit, la majorité des œufs étant déposés dans les 48 heures suivant la nuit de l'accouplement (Moreau et al., 2016). À l'issue d'un délai de 10 jours après la ponte du dernier œuf, les tubes d'œufs sont observés au stéréo-microscope avec un grossissement x8 afin de calculer la proportion des œufs ayant engendré une larve viable (œufs fertiles) (Fig.22). Cette période d'incubation de 10 jours minimum est choisie afin de permettre l'éclosion de tous les œufs fertiles, même ceux pondus lors du dernier jour de ponte (Moreau et al., 2006; Muller et al., 2015a; Torres-Vila et al., 1999). Une femelle n'est considérée comme s'étant effectivement accouplée que si elle pond au moins un œuf fertile, indiquant par le fait un transfert effectif du spermatophore au cours de l'accouplement. L'analyse des tubes d'œufs permet le calcul de quatre métriques reliées à la performance sexuelle des femelles et classiquement prises en compte chez cette espèce : (i) le succès d'accouplement des femelles testées (proportion des femelles utilisées dans les expériences de

reproduction ayant pondu au moins un œuf fertile) (ii) la fécondité (nombre total d'œufs pondus par la femelle), (iii) la fertilité (pourcentage du total d'œufs pondus ayant éclos) et (iv) le taux de ponte (exprimé en œufs/jour et calculé comme le rapport entre le nombre total d'œufs pondus et le nombre de jours écoulés entre la ponte des premiers et des derniers œufs) (Moreau et al., 2006).

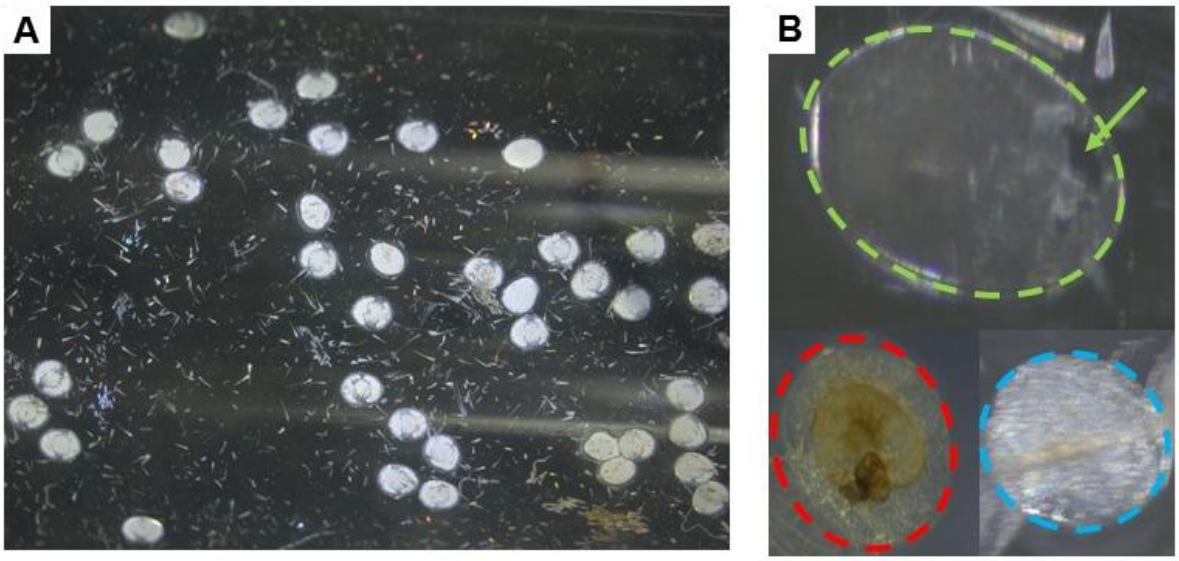


Figure 22 : *Photographies (A) de la paroi d'un tube d'œufs d'eudémis* (L. botrana) *observée au stéréo-microscope avec un grossissement x8 et (B) d'œufs de* L. botrana *à différents stades, observés au stéréo-microscope avec un grossissement x50 : en vert un œuf fertile (reconnaissable au site de perforation créé par la chenille au moment de l'éclosion, indiqué par la flèche verte), en rouge un œuf à l'intérieur duquel la chenille est morte avant éclosion (la capsule céphalique, noircie, est visible par transparence), et en bleu un œuf stérile car non fécondé ou à l'intérieur duquel le développement de la chenille s'est interrompu à un stade très précoce. © C. Manière, C. Iltis.*

4.3.3. Performance sexuelle du mâle

Dans le cas où l'individu testé est un mâle accouplé avec une femelle standard, le mâle est retiré après l'accouplement et n'est plus utilisé par la suite au cours des expériences. La femelle standard, quant à elle, est collectée dès la fin de l'accouplement, congelée à -80°C, puis disséquée sur une lame en verre et sous stéréo-microscope (Stemi 508, Zeiss). La bourse copulatrice, qui contient alors le spermatophore, est délicatement extraite du tractus génital de la femelle à l'aide de pinces ultrafines. Un mâle testé n'est considéré comme s'étant effectivement accouplé que si un spermatophore est trouvé à l'intérieur de la bourse copulatrice de la femelle standard qui lui a été associée. Ce critère permet d'éliminer les individus pour lesquels

aucun transfert de spermatophore n'est réalisé au cours de l'accouplement, en dépit de l'observation d'un contact génital prolongé.

Dans un premier lieu, la taille du spermatophore est appréhendée par estimation de son volume, lequel fournit des informations sur la quantité de sperme et de substances énergétiques transférés à la femelle au cours de la copulation (Muller et al., 2015a; Torres-Vila et al., 1999). Une mesure de taille (volume) plutôt que de masse est favorisée ici car, chez *L. botrana*, la masse du spermatophore est inférieure à 1 mg et il est donc particulièrement difficile de la peser avec précision. L'estimation de la taille du spermatophore par son volume est d'ailleurs une méthode fréquemment utilisée chez les papillons hétérocères (Milonas et al., 2011; Royer and McNeil, 1993), et a déjà été employée à plusieurs reprises chez *L. botrana* (Muller et al., 2015a; Muller et al., 2016a; Torres-Vila et al., 1999). Le volume du spermatophore (V) est extrapolé à partir de mesures de certaines dimensions (la longueur L, la largeur l et l'épaisseur e), toutes réalisées avec un stéréo-microscope au grossissement x20 (Fig.23). En assimilant le spermatophore à un objet de forme ellipsoïdale, le volume est ensuite calculé selon la formule suivante : $V = \pi / 6 (L \times l \times e)$.

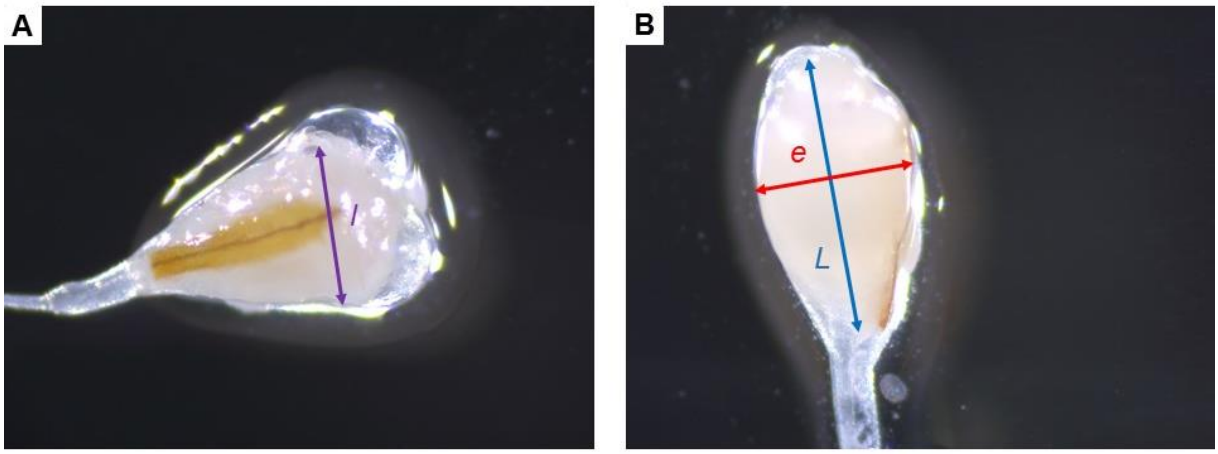


Figure 23 : *Photographies d'un spermatophore de mâle d'eudémis* (L. botrana) *à l'intérieur de la bourse copulatrice de la femelle, vu de dessus (A) et de côté (B), observé avec un stéréo-microscope au grossissement x20. Les trois mesures réalisées afin d'estimer le volume du spermatophore comme indice de sa taille sont indiquées (largeur : l et double flèche violette, longueur : L et double flèche bleue, épaisseur : e et double flèche rouge). © K. Pecharová, C. Iltis.*

Dans un second temps, la bourse copulatrice de la femelle enveloppant le spermatophore est précautionneusement retirée. Afin d'inspecter le contenu du spermatophore, le sac membraneux est déchiré dans une goutte d'eau distillée avec des pinces ultrafines. La masse spermatique en sortant, d'aspect gélatineux, est ensuite délicatement étirée dans l'eau. À ce stade, il est alors possible d'observer des paquets en forme de tortillons à l'intérieur desquels sont enkystés les eupyrènes (en nombre de 256 par paquet), c'est-à-dire les spermatozoïdes nucléés, contenant de l'ADN et ayant un rôle avéré dans la formation du zygote (Friedländer, 1997; Friedländer et al., 2005) (Fig.24). En effet, chez *L. botrana* comme chez tous les Lépidoptères, la production gamétique des mâles se caractérise par la synthèse de deux types de spermatozoïdes aux fonctions visiblement distinctes. Ce phénomène, qualifié de « spermatogénèse dichotomique », engendre la production des spermatozoïdes eupyrènes assurant la fécondation des oocytes, ainsi que la libération de spermatozoïdes apyrènes, anucléés (dépourvus d'ADN), non fécondants et présents en très forte concentration dans le sperme (Friedländer, 1997; Friedländer et al., 2005). Les mesures, visant à caractériser la qualité du mâle en tant que partenaire sexuel, sont portées sur le nombre de paquets d'eupyrènes contenus dans le spermatophore. En effet, cette métrique renseigne directement sur la fertilité du sperme du mâle chez *L. botrana*, avec des conséquences avérées sur les nombres d'œufs pondus par la femelle accouplée et les taux d'éclosion de la ponte (Muller et al., 2015a; Muller et al., 2016a). Aucune mesure n'est réalisée sur les apyrènes car (i) leur rôle joué dans la fécondation, et donc leur lien direct avec la qualité du sperme du mâle, reste jusqu'à ce jour relativement incertain (Friedländer et al., 2005; Konagaya et al., 2016; Silberglied et al., 1984) et (ii) une variation de la concentration en ce type de spermatozoïdes ne semble pas avoir d'incidence particulière sur le potentiel de reproduction du mâle et celui de la femelle accouplée chez cette espèce (Muller et al., 2015a; Muller et al., 2016c).

En résumé, trois métriques reliées à la performance sexuelle des mâles sont prises en compte : (i) le succès d'accouplement des mâles testés (proportion des mâles utilisés dans les expériences de reproduction ayant effectivement transféré le spermatophore dans la bourse copulatrice de la femelle), (ii) le volume du spermatophore (quantité de sperme et de substances énergétiques transférés) et (iii) le nombre de paquets d'eupyrènes contenus à l'intérieur du spermatophore (qualité du sperme transféré).

Figure 24 : *Photographie du contenu d'un spermatophore de mâle d'eudémis* (L. botrana) *observé au stéréo-microscope avec un grossissement x100. Après dilution de la masse spermatique dans une gouttelette d'eau distillée, il est possible de distinguer des paquets d'eupyrènes (entourés en jaune). Chacun de ces tortillons renferment 256 spermatozoïdes nucléés intervenant dans la fécondation des oocytes. © C. Iltis.*

Chapitre III

Cas des régimes constants : réponse du système défensif des chenilles à une augmentation de température moyenne

CONTEXTE GÉNÉRAL DU CHAPITRE ET OBJECTIFS

Les populations d'insectes phytophages sont, au sein des agroécosystèmes, exposées à différents facteurs de contrôle biotiques comme abiotiques (Bianchi et al., 2006; Hawkins et al., 1997; Thomson et al., 2010). À cet égard, l'une des causes principales de mortalité au sein de ces populations est représentée par le cortège d'insectes parasitoïdes, naturellement présents ou introduits en champ comme auxiliaires de lutte biologique (Hawkins et al., 1997). En réponse à cette pression de sélection exercée par le niveau trophique supérieur, les insectes phytophages ont développé des systèmes de protection, reposant sur l'action séquentielle de plusieurs barrières de défense successives (Greeney et al., 2012; Gross, 1993).

Dans un premier lieu, selon l'hypothèse de la « *slow growth high* mortality », la plasticité du développement permet à l'hôte de réduire la fenêtre temporelle de vulnérabilité aux attaques de parasitoïdes, et ainsi d'éviter la rencontre entre les deux antagonistes, augmentant significativement les chances de survie de l'hôte (Clancy and Price, 1987). Cette première barrière peut se matérialiser par une accélération du développement pendant le stade de vulnérabilité de l'hôte, en réponse à la perception d'indices de présence du parasitoïde dans l'environnement (olfactifs, visuels, tactiles, vibratoires…). Un tel phénomène a été observé chez les chenilles d'eudémis qui, lorsqu'elles sont placées en présence d'un parasitoïde larvaire sans contact physique possible, accélèrent leur développement de manière à anticiper le timing de métamorphose, la chrysalide étant protégée des attaques du parasitoïde par un tégument coriace (Vogelweith et al., 2013a).

Si la rencontre entre un hôte durant un stade de vulnérabilité face à une attaque de parasitoïde et un parasitoïde en recherche active d'hôtes se produit, alors une seconde ligne de défense intervient. Cette barrière défensive vise à empêcher l'injection de l'œuf du parasitoïde dans le corps de l'hôte. Elle repose sur l'expression de traits défensifs morphologiques (cuticule renforcée, pilosité importante) et comportementaux (comportements agressifs ou d'évasion) (Firlej et al., 2010; Greeney et al., 2012; Gross, 1993). Chez l'eudémis, l'efficacité de cette seconde barrière de défense repose sur un investissement important dans trois comportements d'évasion caractéristiques, tandis que le rôle joué par les défenses morphologiques (épaisseur du tégument) dans la protection contre les parasitoïdes reste peu documenté (Vogelweith et al., 2014).

Enfin, l'oviposition du parasitoïde n'implique pas nécessairement la mort de l'hôte. Le développement de l'œuf de l'agresseur, et par conséquent la survie de l'hôte, sont conditionnés par l'action d'une ultime barrière de défense : la barrière immunitaire. L'immunité permet, par l'intermédiaire de processus cellulaires et humoraux, de séquestrer et de tuer l'œuf du parasitoïde à l'intérieur du corps de l'hôte (Carton et al., 2008). Le système défensif des chenilles d'eudémis se distingue par un fort investissement dans l'immunité basale (immunité avant infection). Ainsi, la barrière immunitaire joue un rôle de première importance dans les capacités de résistance de ces larves face aux ennemis naturels (Vogelweith et al., 2014).

Il y a, aujourd'hui, une littérature relativement dense démontrant que l'expression de certains de ces traits défensifs est conditionnée par la température de l'environnement, suggérant ainsi des répercussions profondes du réchauffement climatique sur les capacités de résistance des hôtes face à leurs parasitoïdes (Jeffs and Lewis, 2013; Le Lann et al., 2014; Seehausen et al., 2017a; Thierry et al., 2019; van Baaren et al., 2010). L'exemple le plus probant est certainement celui de la barrière développementale, puisque les développements de l'hôte comme du parasitoïde sont susceptibles d'être modifiés par la température, parfois dans des proportions inégales (pouvant alors mener à une modification du degré de synchronisation phénologique entre les deux antagonistes) (Hance et al., 2007; Klapwijk et al., 2010; Wetherington et al., 2017). Une modulation thermique du degré d'expression et du rapport coûts/bénéfices de comportements anti-parasitoïde a également été documentée (Bannerman et al., 2011; Le Lann et al., 2014). Quant aux processus immunitaires, leur sensibilité à la température environnementale est aujourd'hui un fait avéré chez de nombreuses espèces d'hôtes (Catalán et al., 2012; Fischer et al., 2011; Laughton et al., 2017), avec des conséquences fonctionnelles sur leur capacité à tuer un œuf de parasitoïde (Seehausen et al., 2017a). Toutefois, les études précédemment réalisées ont focalisé leur examen sur la réponse thermique d'une seule barrière défensive chez une espèce d'hôte donnée pour inférer le devenir de son interaction avec les parasitoïdes. Ces études admettent donc le postulat que les différents traits défensifs exprimés par une espèce devraient répondre sensiblement de la même manière à une augmentation de la température moyenne de l'environnement, assomption qui ne dispose aujourd'hui d'aucun support expérimental.

Les objectifs de cette étude sont donc (i) d'examiner les réponses thermiques d'un panel de différents traits (développementaux, morphologiques, comportementaux et immunitaires) constitutifs du système de défense des chenilles de *L. botrana* contre leurs parasitoïdes larvaires et (ii) appréhender les impacts potentiels du réchauffement sur le devenir de l'interaction hôte-parasitoïde. Pour ce faire, les chenilles sont soumises à une augmentation graduelle de température moyenne au travers d'une exposition à différents régimes constants. Ce design expérimental relativement simple permet de caractériser une éventuelle variabilité entre traits dans leur réponse à des conditions thermiques de plus en plus chaudes.

MANUSCRIT 1

When warmer means weaker: high temperatures reduce behavioural and immune defences of the larvae of a major grapevine pest.

Corentin Iltis[a], Guillaume Martel[b], Denis Thiéry[c], Jérôme Moreau[a], and Philippe Louâpre[a]

[a] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[b] *UMR INRA Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (CBGP), 755 Avenue du Campus Agropolis, 34980 Montferrier-sur-Lez, France.*

[c] *UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.*

Publié dans *Journal of Pest Science* (2018)

doi : 10.1007/s10340-018-0992-y

Journal of Pest Science
https://doi.org/10.1007/s10340-018-0992-y

ORIGINAL PAPER

When warmer means weaker: high temperatures reduce behavioural and immune defences of the larvae of a major grapevine pest

Corentin Iltis[1] · Guillaume Martel[2] · Denis Thiéry[3] · Jérôme Moreau[1] · Philippe Louâpre[1]

Received: 15 December 2017 / Revised: 14 May 2018 / Accepted: 18 May 2018
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

Abstract

Phytophagous insects evolving in agroecosystems express numerous defences when faced with myriads of natural enemies. Such defensive traits might impair the effectiveness of biological control relying on these natural enemies, mostly parasitoids. In the case of parasitoid threat, these defences consist of the avoidance of the parasitoid (reduced exposure to antagonists through shortening of developmental time), hindrance of oviposition (evasive behaviours and morphological protection) or destruction of the parasitoid eggs (encapsulation and melanisation by means of the immune system). Previous works focused on one defensive trait only when investigating the effects of temperature on host resistance. By doing so, they assumed that all defensive traits would respond uniformly to a change occurring in thermal environment, which remains an undocumented fact. To test this assumption in the context of global warming, we adopted a global overview of host resistance by examining the effects of rising temperatures on multiple defensive traits used by the grape pest, *Lobesia botrana*, against its larval parasitoids. Although warmer conditions led to reduced exposure to parasitoids by accelerating larval development, warmer conditions also elicited extensive weakening of behavioural and immune defences. These results confirm that temperatures might differently modulate the levels of expression of several defensive traits. An increase in growth rate and pupal mass also occurred, especially for females, which may contribute to greater pest fecundity in the future. However, the decline of *L. botrana* resistance might enhance the efficiency of the biological control naturally exerted by parasitoids in vineyards, thereby limiting the damage to crops.

Keywords Climate change · Defensive behaviours · Host–parasitoid interactions · Host resistance · Immunity

Key message

- We studied the effects of temperature on several defensive traits in caterpillars of the major grapevine pest *L. botrana*.
- We found that all defensive traits did not respond similarly to temperature: warming reduced the duration of the larval stage by accelerating development but downregulated behavioural and immune traits.
- In the context of global warming, these results indicate a shortened period of *L. botrana* vulnerability to larval parasitoids and decreased *L. botrana* resistance during this window of vulnerability.

Communicated by M. Traugott.

Corentin Iltis and Guillaume Martel have equally contributed to this work.

✉ Corentin Iltis
corentin.iltis@u-bourgogne.fr

[1] UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France

[2] UMR INRA Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (CBGP), 755 Avenue du Campus Agropolis, 34980 Montferrier-sur-Lez, France

[3] UMR INRA 1065, Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France

Published online: 24 May 2018

Introduction

In agroecosystems, parasitoids are a major biological cause of mortality of phytophagous insects (Hawkins et al. 1997). Such natural biocontrol agents significantly modulate the abundance and the composition of herbivore communities and, ultimately, the damage caused by phytophagous pests to crops (Thomson et al. 2010; Henri et al. 2012; Reineke and Thiéry 2016). In response to this selective pressure, hosts have evolved various protective systems based on several successive lines of defence (Gross 1993; Greeney et al. 2012). In the first instance, faster host development during its vulnerable stage leads to higher host resistance because it shortens the window of host vulnerability during which parasitism may occur ('slow-growth-high-mortality hypothesis', Clancy and Price 1987). In this regard, a host perceiving parasitoids may shorten its developmental time to avoid oviposition attempts (Vogelweith et al. 2013b). If this so-called developmental barrier fails to prevent parasitoid contact, defensive behaviours such as biting the parasitoid, shaking or twisting act as a frontline defence to reduce the risk of oviposition (Greeney et al. 2012; Vogelweith et al. 2014). Oviposition can also be limited by morphological adaptations, such as toughened integument that forms a defensive barrier between the internal environment of the insect and external biotic stress (Greeney et al. 2012; Moret and Moreau 2012; Vogelweith et al. 2014). In case of oviposition, a rapid and appropriate immune response based on cellular processes may kill the parasitoid eggs (Hoffmann et al. 1996; Siva-Jothy et al. 2005). These mechanisms include the recruitment of haemocytes (immune cells circulating in the haemolymph) involved in encapsulation and melanisation of the parasitoid eggs through the action of phenoloxidase (Lavine and Strand 2002; Cerenius and Soderhall 2004).

As ectotherms, phytophagous insects are particularly sensitive to temperature, which is known to affect several aspects of performance in a curvilinear and asymmetric way (Martin and Huey 2008; Angilletta et al. 2010). As the mean temperature of the regime experienced increases, the performance gently rises up to a maximal value of performance associated with a thermal optimum. Once mean temperature exceeds this thermal optimum, the performance abruptly collapses (Martin and Huey 2008; Angilletta et al. 2010). Many life history traits that influence performance vary according to temperature and among them are several defensive traits used against parasitoids such as aggressive behaviours (Le Lann et al. 2014; Moiroux et al. 2016) and encapsulation/melanisation processes (Delava et al. 2016; Seehausen et al. 2017a). Temperature is now recognised as a crucial determinant of host–parasitoid interactions as it influences host resistance to natural enemies on the one hand, and the ability of parasitoids to overcome host resistance (e.g. parasitoid virulence, host selection or intra-patch foraging behaviour) on the other (Hance et al. 2007; Jeffs and Lewis 2013; Moiroux et al. 2015, 2016). Hence, ongoing climate change and the associated 0.3–4.8 °C increase in global mean surface temperature by the end of this century (Intergovernmental Panel on Climate Change 2014) are likely to affect the ability of phytophagous insects to resist parasitism, thereby influencing the outcomes of host–parasitoid interactions and the pressure exerted on crops (Jeffs and Lewis 2013; Harvey 2015; Furlong and Zalucki 2017). Indeed, there is accumulating evidence that the effectiveness of biological control provided by parasitoids under field conditions may be linked to variation in temperature across years (e.g. local manifestations of global warming) (Evans et al. 2013; Meisner et al. 2014) or localities following a natural thermal gradient (Romo and Tylianakis 2013; Vogelweith et al. 2013a).

To date, studies dealing with the effects of temperature on host defence systems have focused on one type of defensive trait, most commonly defensive behaviours or immunological traits (Le Lann et al. 2014; Moiroux et al. 2016; Seehausen et al. 2017a). For instance, in the host–parasitoid complex constituted by larvae of the spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) and their solitary parasitoid *Tranosema rostrale* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an increase in mean temperature has been shown to enhance the efficiency of the hosts in encapsulating and killing the parasitoid eggs (Seehausen et al. 2017a). A more thorough understanding of the consequences of temperature for host–parasitoid interactions would, however, require further insights into the thermal modifications of the array of developmental, behavioural, morphological and immune traits used sequentially to prevent parasitisation. This is especially true since these defensive traits might respond differently to warming conditions as a result of two non-mutually exclusive explanations. First, different traits often display different thermal optima in a given species (Laughton et al. 2017), such that defensive traits could differ regarding their thermal optima. For defensive traits displaying a relatively high thermal optimum, an increase in mean temperature might enhance the host resistance by bringing thermal conditions closer to the optimum for these traits (Le Lann et al. 2014; Seehausen et al. 2017a). Conversely, for defensive traits characterised by a relatively low thermal optimum, the warming experienced might exceed the thermal optimum for the expression of these traits, and negative effects on host resistance can be expected (Fischer et al. 2011; Karl et al. 2011). Thus, an increase in mean temperature might imply different consequences for host resistance, depending on whether or not this warming exceeds the

thermal optimum for the defensive trait considered. Second, the investment in several defensive traits is costly to the host, and hence trade-offs are expected between defensive traits that serve a common function (Parker et al. 2011; Vogelweith et al. 2014). Convincing examples entail trade-offs between immunity and defensive behaviours (Kortet et al. 2007; Zylberberg et al. 2013) or between morphological traits and defensive behaviours (Steiner and Pfeiffer 2007; Vogelweith et al. 2014). As a result, the variation observed in one defensive trait following exposure to different temperatures might greatly affect the expression of other defensive traits. Still, to our knowledge, no study has so far explored the consequences of rising temperatures on different defensive traits to test whether they might respond differently to warming conditions.

In this study, we quantified the effects of an increase in mean temperature on several defensive traits expressed by *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) larvae face with simulated parasitoid attack. Caterpillars of this grapevine pest feed on floral buds and berries (Thiéry and Moreau 2005), affecting the vine stock both directly (through consumption) and indirectly, by increasing its susceptibility to fungal diseases such as grey mould (*Botrytis cinerea*) and black mould (*Aspergillus niger, A. carbonarius*) (Cozzi et al. 2006). One larva is able to infest from 2 to 10 berries when developing on a group of berries called a bunch, and the density might reach up to 20–30 larvae per bunch in seriously affected vineyards (Delbac and Thiéry 2016). Hence, the economic impacts of this pest on wine activity have been rated as 'high', although still never quantified (Fowler and Lakin 2002; Thiéry et al. 2018). In vineyards, *L. botrana* is exposed to several larval parasitoid species, among them Ichneumonidae, Tachinidae, Braconidae, and Bethylidae (Moreau et al. 2010; Thiéry et al. 2011; Scaramozzino et al. 2017). This species represents a good candidate to adopt a global overview encompassing the thermal response of the whole defensive system, because caterpillars are exposed to a high parasitism pressure in the field, as indicated by parasitism rates of approximatively 40% or more, and have developed a defensive system including all of the defensive traits described above (Xuéreb and Thiéry 2006; Moreau et al. 2010; Vogelweith et al. 2013a). We therefore considered developmental defences (time until pupation, as chrysalises are protected against oviposition of larval parasitoids); three behaviours (flee, twisting and dropping); two morphological traits (integument thickness and resistance) and two immune traits (haemocytes concentration and phenoloxidase activity) involved in defence of fifth instar larvae against parasitoids. We focused on this last larval instar because it is the most damaging to grape flowers and berries (Delbac and Thiéry 2016). We expected the defensive traits expressed when faced with a simulated parasitoid attack to differ with regard to their thermal optima and/or be linked to energetic trade-offs, such that these traits may respond in different ways to gradual climate warming.

Materials and methods

Insect origin and maintenance

The larvae used in this experiment came from an inbred and diapause free stock maintained at the French National Institute for Agricultural Research (INRA) (Villenave d'Ornon, France) for more than 10 years. This strain arises from a great number of caged adults (several thousand per week) to which wild adults were periodically added to maintain genetic diversity. Similar patterns in parasitoid escape behaviour, morphological defences and basal immunity have been found between inbred stock and wild populations sampled in French vineyards (Vogelweith et al. 2014). Adults were maintained in a large cage under controlled conditions (22 ± 1 °C, 60 ± 10% relative humidity, photoperiod of L15: D8 and 1 h of dusk). Luminosity reached 1000 lx during the first 15 h of photophase and then fell to 25 lx during dusk. Two bands of waxed paper (4 × 6 cm) were hung for oviposition. After 2–3 days, these papers were collected and transferred to plastic boxes covered by a moist piece of paper towel to avoid desiccation until hatching.

A total of 1410 newly hatched larvae (age < 24 h) were continuously collected throughout the experiments with a fine brush and isolated in Eppendorf tubes filled ad libitum with 1.5 ml of artificial diet (composition for 1000 ml: 1000 ml water, 15 g agar, 86.6 g maize flour, 41.3 g wheat germ, 45.5 g beer yeast, 6 g ascorbic acid, 3.4 g mineral salt, 0.32 g Scala®, 2.7 g benzoic acid, 2.8 g Nipagin® and 5 ml 95% ethanol). Isolation avoided introducing any bias due to larval competition (Moreau et al. 2006a). Tube caps were drilled (Ø = 8 mm) to allow air circulation, and covered with a mesh fabric to prevent larvae from escaping. Larvae were placed in climate chambers (Exo-Terra® PT2445) and randomly distributed between three constant thermal regimes (22, 25 or 28 ± 0.1 °C, 60 ± 10% relative humidity, L16: D8 photoperiod, 500 lx) to reduce maternal and paternal effects. Thermal conditions selected corresponded to summer days in southern France (Perpignan: 42°69′N 2°90′E): 22 °C being the average temperature in July–August (from 1981 to 2010) and 28 °C being the average temperature observed during the warmest month over that period (data from http://www.meteofrance.com). Importantly, 28 °C is also the predicted mean summer temperature for Mediterranean vineyards in 2100 (Leibar et al. 2017). We mimicked such summer climatic conditions because *L. botrana* exhibits high levels of activity during these months, which are associated with the highest crop damage (Varela et al. 2010; Thiéry et al. 2011). In accordance with previous recent works, we

used and compared constant thermal regimes as a way to assess the thermal response of different traits to an increase in mean temperature (Laughton et al. 2017; Seehausen et al. 2017b), and therefore to test whether these thermal responses might differ between defensive traits. Three times per week, larvae and their associated thermal regime were switched between climate chambers in order to minimise potential climate chamber effects. Additionally, their relative location was also changed within the new incubator. Temperature inside the incubators was regularly monitored (once per week) with HOBO data loggers (Onset Computer Corporation, Bourne, MA, USA).

Larval development was monitored when the larvae were switched between climate chambers. Throughout the experiments, fifth instar caterpillars were randomly divided between three groups, because the different measurements cannot be taken on a single individual. In Group 1, larvae were allowed to develop until pupation in order to measure developmental time, pupal mass and growth rate. In Group 2, we chose fifth instar larvae to study the display of protective behaviours followed by morphological defences. In Group 3, we used fifth instar larvae to examine immunocompetence. For measurements of behavioural/morphological and immune defences, we only selected active caterpillars twisting and fleeing when manipulated in their rearing tube.

Group 1: developmental time, pupal mass and growth rate

A total of 1171 larvae reached the pupal stage ($n = 347$ individuals at 22 °C; $n = 325$ individuals at 25 °C; $n = 499$ individuals at 28 °C). Once individuals pupated, we first recorded the developmental time as the time elapsed between hatching and pupation. Pupae were carefully removed from their cocoon and weighed (± 0.01 mg) with a microbalance (Sartorius Quintix 35-15, Goettingen, Germany). We then calculated the growth rate, expressed as the ratio between pupal mass and developmental time. Individuals were sexed after emergence.

Group 2: behavioural and morphological defences

In accordance with a previous study, we focused on the three main defensive behaviours expressed by larvae, called 'flee', 'twisting' and 'dropping' (Vogelweith et al. 2014), which were measured in 94 fifth instar larvae ($n = 28$ individuals at 22 °C; $n = 33$ individuals at 25 °C; $n = 33$ individuals at 28 °C). Behavioural tests were always carried out in the same order ('flee', 'twisting' and 'dropping') to reflect the sequence of defensive behaviours used by *L. botrana* larvae to escape from a parasitoid in natural conditions. For these behavioural measurements, each larva was tested at an ambient temperature strictly identical to the temperature of the constant regime within which the larva developed (either 22, 25 or 28 °C). Hence, testing temperatures differed according to the thermal regime of the tested larva. These testing temperatures were controlled by HOBO data logger. Once each test was run, 20 min of rest were given to larvae (in a clean Eppendorf tube pierced to allow air circulation) before the next test started.

The first behavioural defence ('flee') describes how fast larvae can escape a parasitoid without leaving the bunch they are feeding on. To quantify this behaviour, each individual was placed in the centre of a squared plastic sheet (84 × 116 cm, squares size: 1 × 1 cm) and acclimated for 30 s under the lid of a Petri dish. Once the lid was removed, the number of lines crossed by the larva was counted for 60 s. A preliminary experiment established that it took a minimum of 60 s for a larva to exit the squared sheet. As this behaviour typically occurs before the physical contact between caterpillar and parasitoid, no stimulus was needed to cause larvae to flee (Vogelweith et al. 2014).

The second behaviour ('twisting') corresponds to the ability of caterpillars to quickly and repeatedly twist in an attempt to hinder parasitoid oviposition. In our experimental setup, each larva was placed in a plastic box and acclimated for 30 s under the lid of a Petri dish. The lid was then removed and the larva touched with a fine brush in the dorsal part of the abdomen to mimic a parasitoid attack. An entire sequence of 1 min including 4 contacts (one per 15 s) was recorded (camera SONY HDR-CX220E, Tokyo, Japan) and analysed in slow motion with Kinovea 0.8.15 software to count the total number of twists over the 60 s.

The third behaviour ('dropping') describes how the caterpillar weaves a silk yarn and drops from the parasitised patch to land on another bunch, thereby escaping the foraging parasitoid. To mimic this situation, each larva was deposited at the top of a 100-cm high bracket, and touched with a fine brush (as described in the previous paragraph) until it dropped. The length of the yarn, which is supposed to be positively linked to escape ability of the caterpillar (Vogelweith et al. 2014), was measured with a ruler (precision ± 0.5 mm) after 5 s of stabilisation. As silk production is costly, yarn length can be linked to the investment of each larva in 'dropping' defence.

After completing three behavioural tests, all the larvae were frozen at − 20 °C to further assess their morphological defences. The effectiveness of the integument acting as a physical barrier against a parasitoid sting relies on two features: mechanical resistance and thickness (Vogelweith et al. 2014). Mechanical resistance was quantified by penetrometry: larvae previously stored at − 20 °C were thawed 15 min prior to the measurements being taken, and placed on an aluminium sheet fixed to a scale (precision ± 0.1 mg). A steel needle (TERUMO® 0.8 × 40 mm, Tokyo, Japan) mounted on a drill (PROMAC® 210 Z, Gonesse, France) was slowly

lowered until it penetrated the dorsal and ventral cuticle of the larva and touched the aluminium sheet. The contact between needle and sheet caused the illumination of a light device, and the scale indicated the physical pressure required to breach the integument. Immediately following integument resistance, we measured integument thickness (±0.01 mm) using a thickness gauge (Teclock SM-112, Milano, Italy). For each larva, two measurements of mechanical resistance and thickness were taken at two different locations to determine an average value for each of these integument features. Larvae were then stored in 70% ethanol for subsequent measurements of head capsule width. These measurements were taken using a stereo-microscope at 20× magnification (Nikon SMZ1500, Badhoevedorp, Netherlands), considering the distance between the most distant margins of the capsule as the most reliable estimation of larval body size in this species (Delbac et al. 2010). Nine individuals (4 larvae originating from the 25 °C treatment and 5 larvae originating from the 28 °C treatment) had been damaged during freezing process and were therefore removed from measurements of integument features and head capsule width.

Group 3: immune parameters

Immune parameters were assessed on 144 larvae ($n = 48$ individuals for each thermal regime) without a prior immune challenge, because *L. botrana* caterpillars have a very high basal immunity and do not significantly respond to an infection (Vogelweith et al. 2014). Fifth instar larvae were chilled on ice for 30 min, and a 2 µl sample of haemolymph was obtained by pricking the posterior part of the dorsal surface, using a sterile glass capillary for collection (Hirschmann®Laborgeräte, Eberstadt, Germany). After haemolymph collection, caterpillars were preserved in 70% ethanol for subsequent measurements of head capsule width using the same method as described above.

These 2-µl samples of haemolymph were transferred into microcentrifuge tubes containing 20 µl of filtered phosphate-buffered saline (PBS, 8.74 g NaCl, 1.78 g Na_2HPO_4, 1000 ml distilled water, pH 6.5). Ten microlitres of this solution was immediately withdrawn to estimate the concentration of haemocytes, using a Neubauer-improved haemocytometer under a phase contrast microscope at 400× magnification (Nikon Eclipse E200, Amsterdam, Netherlands). The remaining solution (12 µl) was diluted in 10 µl of filtered PBS and stored at −20 °C for later measurements of activity of phenoloxidase (PO). We distinguished the activity of naturally functional PO (PO activity) and the activity of the proenzymes added to PO activity (total PO activity potentially involved in immune defence); both parameters were estimated using a spectrophotometry method based on Vogelweith et al. (2011). To assess total PO activity required the activation of proenzymes by adding chymotrypsin. For these measurements, each sample of diluted haemolymph solution was allowed to thaw very slowly on ice and subsequently centrifuged (4000 *g*, 15 min, 4 °C). Five microlitres of supernatant was deposited in a microplate well, either with 160 µl of diluted PBS solution (35 ml ultrapure water, 5 ml filtered PBS) for PO activity or with 160 µl of chymotrypsin solution (35 ml ultrapure water, 5 ml filtered PBS, 2.45 mg trypsin) for total PO activity. Finally, 20 µl of L-dopa solution (40 ml ultrapure water, 160 mg L-dopamine) was added to each well. The enzyme reaction proceeded for 3 h at 30 °C in a microplate reader (Versamax Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA), after which the readings were taken every 15 s at 490 nm. Data were subsequently analysed using the SOFT-Max®Pro 4.0 software (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Maximal enzyme activity (V_{max}) was estimated as the slope of the absorbance curve during its linear phase and reported to the activity of 1 µl of pure haemolymph.

Statistical analyses

For larvae assigned to Group 1, developmental time was compared between sex and thermal regimes with a generalised linear model (GLM) based on Gamma distribution, which fit the data best, followed by Tukey post hoc test to identify differences among thermal regimes. Pupal mass and growth rate were normally distributed (Shapiro–Wilk test), and their variances were homogenous between sexes and thermal regimes (Levene test). Hence, pupal mass and growth rate were compared between sexes and thermal regimes by performing a two-way ANOVA followed by Tukey post hoc test, which helped to describe the significant interaction between sex and thermal regime we observed for these two measurements.

For larvae assigned to Group 2, no transformation allowed data normalisation for behavioural measurements. We estimated any confounding effect of larval body size on the behavioural measurements with Spearman's rank correlation test. Only the total number of twists was significantly correlated with larval body size. Hence, we corrected these data through division by size. All behavioural measurements were then compared between thermal regimes using Kruskal–Wallis test followed by Nemenyi post hoc test to identify differences among thermal regimes. Measurements of integument features were normally distributed and their variances were homogenous between thermal regimes. These data were therefore analysed with ANCOVA integrating thermal regime (as a factor) and larval body size (as a covariate), followed by Tukey post hoc test.

For larvae assigned to Group 3, no transformation allowed data normalisation for immune parameters. We tested for an effect of larval size on immune parameters with Spearman's rank correlation test. No size correction

was needed here because none of the immune parameters was significantly correlated with larval body size. All the immune parameters were compared between thermal regimes with Kruskal–Wallis test followed by Nemenyi post hoc test. Error in Tukey post hoc tests was controlled with Bonferroni correction. A tie correction was applied to Nemenyi post hoc tests when several observations shared the same value in dataset (behavioural measurements and haemocytes concentration). All statistical analyses were carried out using R 3.2.3 software (R Development Core Team 2016). For all tests, the alpha significance threshold was set at $\alpha = 0.05$, unless adjusted as described above to prevent Type I errors.

Results

Group 1: developmental time, pupal mass and growth rate

Developmental time was affected by the additive effects of sex and thermal regime: males developed faster than females, and both sexes developed faster as mean temperature increased (Fig. 1, Table 1). Mean values of developmental time and their 95% confidence interval ($CI_{95\%}$) were 24.7 days for males ($CI_{95\%} = [24.0; 25.5]$, $n = 622$ individuals), and 27.5 days for females ($CI_{95\%} = [26.5; 28.5]$, $n = 549$ individuals). Pupal mass and growth were impacted in the same way by the interactive effect between sex and thermal regime (Table 1). In females, pupal mass and growth rate increased more steeply with temperature compared with males. Hence, individuals reared at 28 °C displayed higher pupal mass and growth rate than those reared at 22 and 25 °C, and these differences were more pronounced for females than males (Fig. 2a, b).

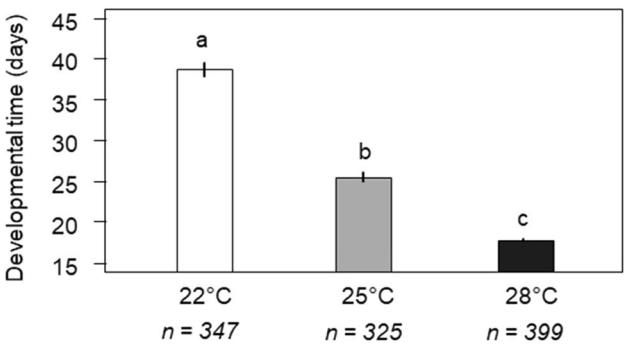


Fig. 1 Effect of thermal regime (22, 25 or 28 °C) on the mean (±95% confidence interval) developmental time of male and female *L. botrana* larvae. Means associated with the same letter are not statistically different ($P > 0.05$) and numbers below the x-axis refer to sample sizes

Table 1 Effects of sex, thermal regime (22, 25 or 28 °C) and their interaction on developmental time (from hatching to pupation), pupal mass, and growth rate (pupal mass/developmental time)

Factor	Test value	*P*
Developmental time[a]		
Sex	$\boldsymbol{\chi^2_2 = 30.310}$	**< 0.001**
Thermal regime	$\boldsymbol{\chi^2_2 = 1753}$	**< 0.001**
Sex × Thermal regime	$\chi^2_2 = 0.027$	0.870
Pupal mass[b]		
Sex	$\boldsymbol{F_{1,1165} = 1177}$	**< 0.001**
Thermal regime	$\boldsymbol{F_{2,1165} = 37.284}$	**< 0.001**
Sex × Thermal regime	$\boldsymbol{F_{2,1165} = 13.925}$	**< 0.001**
Growth rate[b]		
Sex	$\boldsymbol{F_{1,1165} = 284}$	**< 0.001**
Thermal regime	$\boldsymbol{F_{2,1165} = 548}$	**< 0.001**
Sex × Thermal regime	$\boldsymbol{F_{2,1165} = 35.298}$	**< 0.001**

Subscripts associated with statistics indicate degrees of freedom of the corresponding test. Bold values indicate significant differences ($P < 0.05$)

[a]Generalised linear model based on Gamma distribution

[b]Two-way ANOVA

Group 2: behavioural and morphological defences

Number of lines crossed (flee behaviour) was not impacted by thermal regime (Fig. 3a, Table 2). Total number of twists was negatively correlated with larval body size (Spearman's $\rho = -0.284$, Table 2), such that bigger larvae twisted significantly less than smaller larvae. After size correction, total number of twists was influenced by thermal regime (Table 2), such that larvae reared at 28 °C twisted less than those reared at 25 and 22 °C (Fig. 3b). Length of the silk yarn (dropping behaviour) also responded to thermal regime (Table 2), such that caterpillars wove shorter silk yarns at 28 °C in comparison with 22 °C (Fig. 3c).

Integument resistance was positively correlated with larval body size ($F_{1,81} = 5.174$, $P = 0.026$), such that bigger larvae displayed a more resistant integument than smaller larvae, but was not affected by thermal regime ($F_{2,81} = 3.000$, $P = 0.055$). Mean values of integument resistance were 2.58 mg at 22 °C ($CI_{95\%} = [2.29; 2.86]$, $n = 28$ individuals), 2.32 mg at 25 °C ($CI_{95\%} = [1.99; 2.67]$, $n = 29$ individuals), and 2.96 mg at 28 °C ($CI_{95\%} = [2.57; 3.36]$, $n = 28$ individuals). Integument thickness was not influenced by larval body size ($F_{1,81} = 0.952$, $P = 0.332$) or thermal regime ($F_{2,81} = 1.901$, $P = 0.155$). Mean values of integument thickness were 17.1 µm at 22 °C ($CI_{95\%} = [15.4; 18.7]$, $n = 28$ individuals), 15.9 µm at 25 °C ($CI_{95\%} = [14.5; 17.5]$, $n = 29$ individuals), and 17.9 µm at 28 °C ($CI_{95\%} = [16.7; 19.2]$, $n = 28$ individuals).

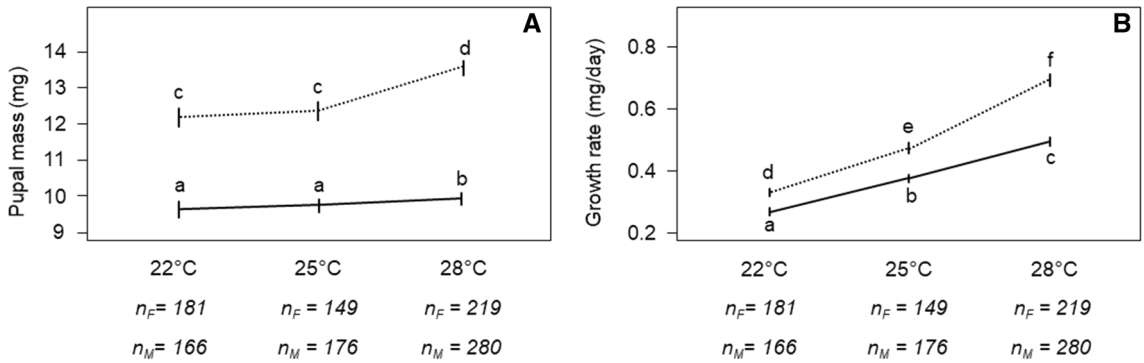


Fig. 2 Interactive effect between sex and thermal regime (22, 25 or 28 °C) on the mean (±95% confidence interval) of two life history traits for males (solid lines) and females (dotted lines): **a** pupal mass, and **b** growth rate. Means associated with the same letter are not statistically different ($P > 0.05$) and numbers below the *x*-axis refer to sample sizes (n_F for females, n_M for males)

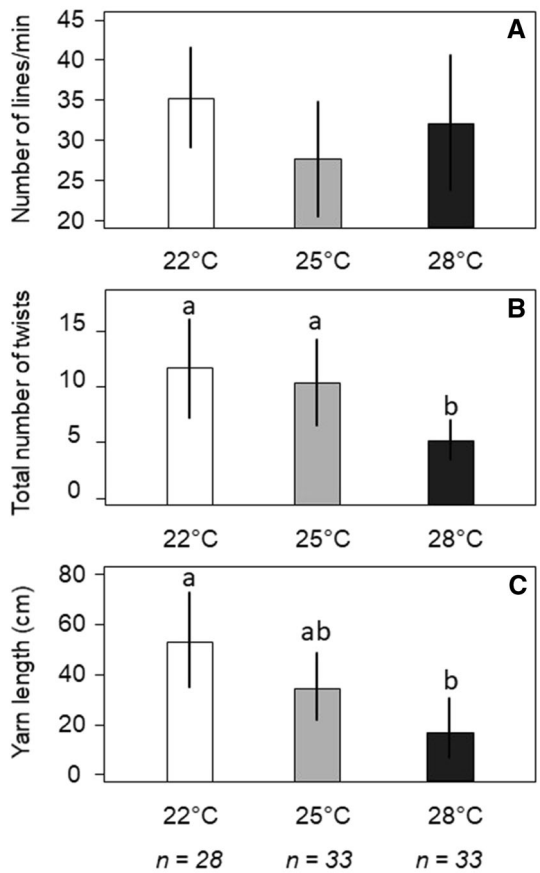


Fig. 3 Effect of thermal regime (22, 25 or 28 °C) on the mean (±95% confidence interval) of three evasive behaviours expressed by *L. botrana* larvae: **a** number of lines crossed, **b** total number of twists, and **c** length of the yarn spun. Means associated with the same letter are not statistically different ($P > 0.05$) and numbers below the x-axis refer to sample sizes

Table 2 Effects of larval body size and thermal regime (22, 25 or 28 °C) on behavioural and immune defences displayed by fifth instar *L. botrana* larvae

	Larval body size		Thermal regime	
	Test value	*P*	Test value	*P*
Behavioural defences				
Number of lines crossed	$\rho = 0.086$	0.434	$\chi^2_2 = 2.534$	0.282
Number of twists	$\boldsymbol{\rho = -0.284}$	**0.008**	$\boldsymbol{\chi^2_2 = 6.520}$	**0.038**
Yarn length	$\rho = -0.088$	0.422	$\boldsymbol{\chi^2_2 = 12.393}$	**0.002**
Immune defences				
Haemocytes concentration	$\rho = -0.012$	0.884	$\boldsymbol{\chi^2_2 = 17.232}$	**< 0.001**
Total PO activity	$\rho = -0.060$	0.474	$\boldsymbol{\chi^2_2 = 6.783}$	**0.033**
PO activity	$\rho = -0.015$	0.855	$\chi^2_2 = 0.919$	0.632

ρ values refer to Spearman's rank correlation test and χ^2 to Kruskal–Wallis test. Subscripts associated with statistics indicate degrees of freedom of the corresponding test. Bold values indicate significant differences ($P < 0.05$)

Group 3: immune parameters

None of the immune parameters measured were impacted by larval body size (Table 2). Haemocyte concentration and total PO activity were both affected by thermal regime (Table 2), such that larvae reared at 28 and 25 °C possessed significantly lower concentration of haemocytes than those reared at 22 °C (Fig. 4a). Similarly, total PO activity was lower for larvae reared at 28 °C compared with 22 °C (Fig. 4b). The PO activity did not respond to thermal regime (Table 2). Head capsule width (larval body size) was not impacted by thermal regime (one-way ANOVA, $F_{2,226} = 0.952$, $P = 0.388$).

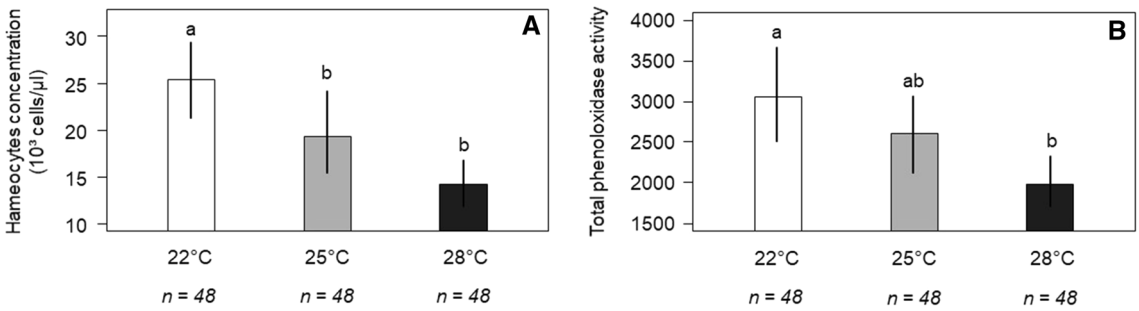


Fig. 4 Effect of thermal regime (22, 25 or 28 °C) on the mean (±95% confidence interval) of two immune parameters in one microlitre of pure haemolymph from *L. botrana* larvae: **a** haemocytes concentration, and **b** total phenoloxidase activity. Means associated with the same letter are not statistically different ($P > 0.05$) and numbers below the *x*-axis refer to sample sizes

Discussion

In this study, we assessed the response of several defensive traits displayed by fifth instar *L. botrana* larvae against parasitism when larvae were reared under different thermal regimes. Our study provides new evidence that a realistic increase in mean temperature, according to the predictions for simulated year 2100 in Mediterranean vineyards (Leibar et al. 2017), may impact the defensive system used by an herbivorous insect against parasitoids. Additionally, we showed that defensive traits responded differently to an increase in rearing temperature: some defensive traits were upregulated (developmental time), some were downregulated (evasive behaviours and immunity), and some were not influenced by this gradual warming (integument features). These results illustrate that considering the thermal response of only one defensive trait might be misleading when attempting to predict pest response to its natural enemies. More specifically, these findings have two major consequences for the resistance of *L. botrana* caterpillars to larval parasitoids and the outcomes of the interaction between these two trophic levels in the context of climate change.

First, we found that higher temperature diminished developmental times from an egg hatching to its chrysalis (e.g. duration of larval stage), which is a widely observed pattern in ectothermic animals (Angilletta et al. 2004). According to the 'slow-growth-high-mortality' hypothesis, faster development during a vulnerable stage limits the amount of time during which parasitism may occur (Clancy and Price 1987; Benrey and Denno 1997; Vogelweith et al. 2013b). In vineyards, most of the parasitoids known to attack *L. botrana* are larval endoparasitoids (Scaramozzino et al. 2017). Therefore, the shorter larval stage we observed under warmer conditions is likely to reduce larval exposure to a large proportion of its natural enemies.

Second, despite this potential increase in the ability of *L. botrana* caterpillars to avoid the encounter with parasitoids, one of our most striking results was a widespread decrease in larval defensive behaviours (twisting and dropping) and immune effectors involved in destroying parasitoid eggs (haemocytes concentration and total PO activity) at 28 °C compared with cooler mean temperature (25 or 22 °C). These two defensive strategies have been identified as the two major components of the defensive system used by *Lobesia botrana* caterpillars against parasitoids (Vogelweith et al. 2014). Thus, global warming could substantially increase parasitoid success by limiting both the ability of host larvae to actively reduce parasitism rates (e.g. avoiding parasitoid oviposition by means of defensive behaviours) and parasitoid emergence (e.g. killing parasitoid eggs by means of immune processes).

Some critical issues must, however, be considered before inferring that parasitism success is linked with thermally induced changes in host development, behaviour and immunity. First, insects experience temperatures that fluctuate daily over the course of their development in natural conditions (Colinet et al. 2015). Such thermal fluctuations are known to affect defensive traits involved in host resistance, like those related to immune function (Fischer et al. 2011). The effects of thermal fluctuations on performance can be predicted and understood once the thermal response of the trait considered has been established, as we did in our study by comparing constant regimes. Daily fluctuations in temperatures may affect performance in different ways depending on the mean temperature around which they occur, and whether or not these fluctuations include stressful temperatures that depress performance (Colinet et al. 2015). More specifically, thermal fluctuations might exert negative effects on host resistance if they expose the organism to temperatures remaining above the thermal optimum for defensive traits during the warmest hours of the cycle. In the context of global warming, such negative effects of thermal fluctuations on host resistance are more likely to occur as mean temperatures rise (Colinet et al. 2015). For this reason, we expect that daily fluctuations in temperatures experienced in hotter environments will also lead to decreased host resistance,

as we observed to result when hosts were exposed to an increase in constant temperature during development.

Second, to what extent direct measurements of host immunocompetence can predict host resistance to natural enemies is under debate (Adamo and Lovett 2011; Enríquez-Vara et al. 2012; Yin et al. 2014). Many larval endoparasitoids belonging to the Ichneumonidae and Braconidae families inject viruses that suppress the host immune system and protect parasitoid eggs from encapsulation and melanisation (Asgari et al. 1996; Beckage 1998). Interestingly, the ability of the parasitoid to circumvent the immune function of its host depends on thermal conditions: higher temperatures have been shown to downregulate the expression of viral genes transmitted by the parasitoid to its lepidopteran host (Seehausen et al. 2017a). In vineyards, ichneumonid and braconid species frequently parasitise *L. botrana* larvae (Scaramozzino et al. 2017), and thus, it may be important to consider that host immune response may vary with temperature and parasitoid species.

Third, our results clearly indicate a complex response of several host defensive traits that is likely to modify the host–parasitoid interaction, but not in easily predictable ways. Warming conditions are known to significantly reduce the time needed to complete the development of parasitoids within their host (Duan et al. 2014; Schreven et al. 2017; Noor-ul-Ane et al. 2017). This thermal response is expected to maintain a temporal overlap between the occurrence of adult parasitoids and vulnerable hosts, even if the host is speeding up its development following exposure to warmer conditions (Klapwijk et al. 2010; Noor-ul-Ane et al. 2017). However, the ability of parasitoids to cope with a reduced period of host susceptibility will also be influenced by their temperature-dependent foraging activity and lifespan (Henri et al. 2012). For example, temperature influences locomotor activity, patch time allocation, sex allocation and host selection of parasitoids (Moiroux et al. 2015, 2016), which makes difficult to predict the way global warming may affect host–parasitoid interactions. Consequently, additional information about the thermal response of the whole host–parasitoid complex would be helpful to understand more deeply how these interspecific relationships might be reshaped by global warming (see Bahar et al. 2012; Delava et al. 2016 for some examples).

To what extent grapevine moth might impact wine production in the future will depend on the concurrent effects of hotter conditions on its population dynamics and its relationships with lower (e.g. host plant) and upper trophic levels (e.g. natural enemies such as parasitoids). The simulated warming experienced by *L. botrana* caterpillars induced increased pupal mass and growth rate, which remains in accordance with other experimental findings (as reviewed in Angilletta and Dunham 2003). Importantly, this thermal response was stronger in females. As female fecundity is positively linked to pupal mass in *L. botrana* (Moreau et al. 2006b), these results indicate a potential benefit of global warming on the fecundity of this pest. The associated detrimental impacts on wine-making activity could even be exacerbated by an increase in voltinism as observed in Mediterranean vineyards, owing to higher development rates and an extended growing season (Martín-Vertedor et al. 2010). In agroecosystems, *L. botrana* caterpillars might feed on several grapevine cultivars and alternative host plants with different nutritional values. This variation in food quality has been shown to affect both the immunocompetence of this species (Vogelweith et al. 2011; Muller et al. 2015) and the parasitism rates observed in the field (Vogelweith et al. 2013a). The geographic distribution of grape varieties is largely controlled by climatic conditions, hence global warming is expected to lead to a profound reshaping of the optimal zones for many cultivars (Fraga et al. 2016). Accurate predictions about future crop damage associated with *L. botrana* in a given area with specific changes in climate could be made when combining the predicted future optimal zones of grape varieties with the known effects of these cultivars on the biological control exerted by parasitoids. Our study provides new evidence that a realistic increase in mean temperature might modulate the levels of expression of several defensive traits used by *L. botrana* caterpillars against their larval parasitoids. In the light of these findings, we advocate to also incorporate the direct effects of future thermal conditions likely to occur in vineyards when attempting to predict the damage associated with *L. botrana* in the coming decades.

Author contribution

GM, JM and PL conceived the experimental design. GM carried out the experiments. All the authors analysed the data. CI led the writing of the manuscript. All authors gave their final approval of the version to be published.

Acknowledgements The authors want to thank S. Motreuil for his apparatus used in penetrometry method, L. Delbac and M. Toulouse who took care of the insects, L. Lapique for her assistance during behavioural testing, and E. Parfitt for English revision.

Funding This study was founded by the Conseil Régional de Bourgogne Franche-Comté (FABER: LOUAPRE-AGREE-BGS) and the Région Bourgogne Franche-Comté.

Data accessibility Datasets are available under request.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.

References

Adamo SA, Lovett MME (2011) Some like it hot: the effects of climate change on reproduction, immune function and disease resistance in the cricket *Gryllus texensis*. J Exp Biol 214:1997–2004. https://doi.org/10.1242/jeb.056531

Angilletta MJ, Dunham AE (2003) The temperature-size rule in ectotherms: simple evolutionary explanations may not be general. Am Nat 162:332–342. https://doi.org/10.1086/377187

Angilletta MJ, Steury TD, Sears MW (2004) Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. Integr Comp Biol 44:498–509. https://doi.org/10.1093/icb/44.6.498

Angilletta MJ, Huey RB, Frazier MR (2010) Thermodynamic effects on organismal performance: Is hotter better? Physiol Biochem Zool 83:197–206. https://doi.org/10.1086/648567

Asgari S, Hellers M, Schmidt O (1996) Host haemocyte inactivation by an insect parasitoid: transient expression of a polydnavirus gene. J Gen Virol 77:2653–2662. https://doi.org/10.1099/0022-1317-77-10-2653

Bahar MH, Soroka JJ, Dosdall LM (2012) Constant versus fluctuating temperatures in the interactions between *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and its larval parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Environ Entomol 41:1653–1661. https://doi.org/10.1603/EN12156

Beckage NE (1998) Modulation of immune responses to parasitoids by polydnaviruses. Parasitology 116:S57–S64. https://doi.org/10.1017/S0031182000084948

Benrey B, Denno RF (1997) The slow growth high mortality hypothesis: a test using the cabbage butterfly. Ecology 78:987–999. https://doi.org/10.2307/2265852

Cerenius L, Soderhall K (2004) The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. Immunol Rev 198:116–126. https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00116.x

Clancy KM, Price PW (1987) Rapid herbivore growth enhances enemy attack: sublethal plant defenses remain a paradox. Ecology 68:733–737. https://doi.org/10.2307/1938479

Colinet H, Sinclair BJ, Vernon P, Renault D (2015) Insects in fluctuating thermal environments. Annu Rev Entomol 60:123–140. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021017

Cozzi G, Pascale M, Perrone G, Visconti A, Logrieco A (2006) Effect of *Lobesia botrana* damages on black aspergilli rot and ochratoxin A content in grapes. Int J Food Microbiol. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.03.012

Delava E, Fleury F, Gibert P (2016) Effects of daily fluctuating temperatures on the *Drosophila—Leptopilina boulardi* parasitoid association. J Therm Biol 60:95–102. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.06.012

Delbac L, Thiéry D (2016) Damage to grape flowers and berries by *Lobesia botrana* larvae (Denis & Schiffernüller) (Lepidoptera: Tortricidae), and relation to larval age. Aust J Grape Wine Res 22:256–261. https://doi.org/10.1111/ajgw.12204

Delbac L, Lecharpentier P, Thiery D (2010) Larval instars determination for the European grapevine moth (Lepidoptera: Tortricidae) based on the frequency distribution of head-capsule widths. Crop Prot 29:623–630. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.01.009

Duan JJ, Jennings DE, Williams DC, Larson KM (2014) Patterns of parasitoid host utilization and development across a range of temperatures: implications for biological control of an invasive forest pest. Biocontrol 59:659–669. https://doi.org/10.1007/s10526-014-9604-9

Enríquez-Vara JN, Córdoba-Aguilar A, Guzmán-Franco AW, Alatorre-Rosas R, Contreras-Garduño J (2012) Is survival after pathogen exposure explained by host's immune strength? A test with two species of white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) exposed to fungal infection. Environ Entomol 41:959–965. https://doi.org/10.1603/EN12011

Evans EW, Carlile NR, Innes MB, Pitigala N (2013) Warm springs reduce parasitism of the cereal leaf beetle through phenological mismatch. J Appl Entomol 137:383–391. https://doi.org/10.1111/jen.12028

Fischer K, Kölzow N, Höltje H, Karl I (2011) Assay conditions in laboratory experiments: Is the use of constant rather than fluctuating temperatures justified when investigating temperature-induced plasticity? Oecologia 166:23–33. https://doi.org/10.1007/s00442-011-1917-0

Fowler G, Lakin K (2002) Risk assessment: vine moth, Lobesia botrana (Denis and Schiffermüller), (Lepidoptera: Tortricidae). USDA-APHIS, Centre for Plant Health Science and Technology, Raleigh

Fraga H, Santos JA, Malheiro AC et al (2016) Climatic suitability of Portuguese grapevine varieties and climate change adaptation. Int J Climatol 36:1–12. https://doi.org/10.1002/joc.4325

Furlong MJ, Zalucki MP (2017) Climate change and biological control: the consequences of increasing temperatures on host–parasitoid interactions. Curr Opin Insect Sci 20:39–44. https://doi.org/10.1016/j.cois.2017.03.006

Greeney HF, Dyer LA, Smilanich AM (2012) Feeding by lepidopteran larvae is dangerous: a review of caterpillars' chemical, physiological, morphological and behavioral defenses against natural enemies. Invertebr Surviv 9:7–34

Gross P (1993) Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. Annu Rev Entomol 38:251–273. https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001343

Hance T, van Baaren J, Vernon P, Boivin G (2007) Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. Annu Rev Entomol 52:107–126. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091333

Harvey JA (2015) Conserving host–parasitoid interactions in a warming world. Curr Opin Insect Sci 12:79–85. https://doi.org/10.1016/J.COIS.2015.09.001

Hawkins BA, Cornell HV, Hochberg ME (1997) Predators, parasitoids and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. Ecology 78:2145–2152. https://doi.org/10.1890/0012-9658(1997)078[2145:PPAPAM]2.0.CO;2

Henri DC, Seager D, Weller T, van Veen FJF (2012) Potential for climate effects on the size-structure of host–parasitoid indirect interaction networks. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 367:3018–3024. https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0236

Hoffmann JA, Reichhart J-M, Hetru C (1996) Innate immunity in higher insects. Curr Opin Immunol 8:8–13. https://doi.org/10.1016/S0952-7915(96)80098-7

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (2014) Climate change 2014. Impacts, adaptation and vulnerability. Part B: regional aspects. In: Barros VR, Field CB (eds) Working group II contribution to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, New York, pp 1133–1787

Jeffs CT, Lewis OT (2013) Effects of climate warming on host–parasitoid interactions. Ecol Entomol 38:209–218. https://doi.org/10.1111/een.12026

Karl I, Stoks R, De Block M, Janowitz SA, Fischer K (2011) Temperature extremes and butterfly fitness: conflicting evidence from life history and immune function. Glob Change Biol 17:676–687. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02277.x

Klapwijk MJ, Gröbler D, Ward K, Lewis OT (2010) Influence of experimental warming and shading on host–parasitoid synchrony. Glob Change Biol 16:102–112. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01918.x10.1111/j.1365-2486.2009.01918.x

Kortet R, Rantala MJ, Hedrick A (2007) Boldness in anti-predator behaviour and immune defence in field crickets. Evol Ecol Res 9:185–197

Laughton AM, O'Connor CO, Knell RJ (2017) Responses to a warming world: integrating life history, immune investment, and pathogen resistance in a model insect species. Ecol Evol 7:9699–9710. https://doi.org/10.1002/ece3.3506

Lavine MD, Strand MR (2002) Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Biochem Mol Biol 32:1295–1309. https://doi.org/10.1016/S0965-1748(02)00092-9

Le Lann C, Lodi M, Ellers J (2014) Thermal change alters the outcome of behavioural interactions between antagonistic partners. Ecol Entomol 39:578–588. https://doi.org/10.1111/een.12135

Leibar U, Pascual I, Morales F, Aizpurua A, Unamunzaga O (2017) Grape yield and quality responses to simulated year 2100 expected climatic conditions under different soil textures. J Sci Food Agric 97:2633–2640. https://doi.org/10.1002/jsfa.8086

Martin TL, Huey RB (2008) Why 'suboptimal' is optimal: Jensen's inequality and ectotherm thermal preferences. Am Nat 171:E102–E118. https://doi.org/10.1086/527502

Martín-Vertedor D, Ferrero-García JJ, Torres-Vila LM (2010) Global warming affects phenology and voltinism of *Lobesia botrana* in Spain. Agric For Entomol 12:169–176. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2009.00465.x

Meisner MH, Harmon JP, Ives AR (2014) Temperature effects on long-term population dynamics in a parasitoid–host system. Ecol Monogr 84:457–476. https://doi.org/10.1890/13-1933.1

Moiroux J, Boivin G, Brodeur J (2015) Temperature influences host instar selection in an aphid parasitoid: support for the relative fitness rule. Biol J Linn Soc 115:792–801. https://doi.org/10.1111/bij.12545

Moiroux J, Abram PK, Louâpre P et al (2016) Influence of temperature on patch residence time in parasitoids: physiological and behavioural mechanisms. Sci Nat 103:32–42. https://doi.org/10.1007/s00114-016-1357-0

Moreau J, Benrey B, Thiéry D (2006a) Assessing larval quality food for phytophagous insects: Are the facts as simple as they appear? Funct Ecol 20:592–600. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01145.x

Moreau J, Benrey B, Thiéry D (2006b) Grape variety affects larval performance and also female reproductive performance of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Bull Entomol Res 96:205–212. https://doi.org/10.1079/BER2005417

Moreau J, Villemant C, Benrey B, Thiéry D (2010) Species diversity of larval parasitoids of the European grapevine moth (*Lobesia botrana*, Lepidoptera: Tortricidae): the influence of region and cultivar. Biol Control 54:300–306. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.05.019

Moret Y, Moreau J (2012) The immune role of the arthropod exoskeleton. Invertebr Surviv J 9:200–206

Muller K, Vogelweith F, Thiéry D, Moret Y, Moreau J (2015) Immune benefits from alternative host plants could maintain polyphagy in a phytophagous insect. Oecologia 177:467–475. https://doi.org/10.1007/s00442-014-3097-1

Noor-ul-Ane M, Ali Mirhosseini M, Crickmore N et al (2017) Temperature-dependent development of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and its larval parasitoid, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae): implications for species interactions. Bull Entomol Res. https://doi.org/10.1017/S0007485317000724

Parker BJ, Barribeau SM, Laughton AM, de Roode JC, Gerardo NM (2011) Non-immunological defense in an evolutionary framework. Trends Ecol Evol 26:242–248. https://doi.org/10.1016/J.TREE.2011.02.005

R Development Core Team (2016) R: a language and environment for statistical computing. Vienna

Reineke A, Thiéry D (2016) Grapevine insect pests and their natural enemies in the age of global warming. J Pest Sci 89:312–328. https://doi.org/10.1007/s10340-016-0761-8

Romo CM, Tylianakis JM (2013) Elevated temperature and drought interact to reduce parasitoid effectiveness in suppressing hosts. PLoS ONE 8:e58136. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058136

Scaramozzino PL, Loni A, Lucchi A (2017) A review of insect parasitoids associated with *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller, 1775) in Italy. 1. Diptera Tachinidae and Hymenoptera Braconidae (Lepidoptera, Tortricidae). Zookeys 647:67–100. https://doi.org/10.3897/zookeys.647.11098

Schreven SJJ, Frago E, Stens A, de Jong PW, van Loon JJA (2017) Contrasting effects of heat pulses on different trophic levels, an experiment with a herbivore–parasitoid model system. PLoS ONE 12:e0176704. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176704

Seehausen LM, Cusson M, Régnière J et al (2017a) High temperature induces downregulation of polydnavirus gene transcription in lepidopteran host and enhances accumulation of host immunity gene transcripts. J Insect Physiol 98:126–133. https://doi.org/10.1016/J.JINSPHYS.2016.12.008

Seehausen LM, Régnière J, Martel V, Smith SS (2017b) Developmental and reproductive responses of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) parasitoid *Tronema rostrale* (Hymenoptera: Ichneumonidae) to temperature. J Insect Physiol 98:38–46. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.008

Siva-Jothy MT, Moret Y, Rolff J (2005) Insect immunity: an evolutionary ecology perspective. Adv Insect Physiol 32:1–48. https://doi.org/10.1016/S0065-2806(05)32001-7

Steiner UK, Pfeiffer T (2007) Optimizing time and resource allocation trade-offs for investment into morphological and behavioral defense. Am Nat 169:118–129. https://doi.org/10.1086/509939

Thiéry D, Moreau J (2005) Relative performance of European grapevine moth (*Lobesia botrana*) on grapes and other hosts. Oecologia 143:548–557. https://doi.org/10.1007/s00442-005-0022-7

Thiéry D, Delbac L, Villemant C, Moreau J (2011) Control of grape berry moth larvae using parasitoids: Should it be developed? Integr Prot Prod Vitic 67:189–196

Thiéry D, Louâpre L, Muneret L et al (2018) Biological protection against grape berry moths. A review. Agron Sustain Dev 38:15. https://doi.org/10.1007/s13593-018-0493-7

Thomson LJ, Macfadyen S, Hoffmann AA (2010) Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. Biol Control 52:296–306. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.01.022

Varela LG, Smith RJ, Cooper ML, Hoenisch RW (2010) European grapevine moth, *Lobesia botrana*, in Napa Valley vineyards. Practical Winery and Vineyard (March/April), pp 1–5

Vogelweith F, Thiéry D, Quaglietti B, Moret Y, Moreau J (2011) Host plant variation plastically impacts different traits of the immune system of a phytophagous insect. Funct Ecol 25:1241–1247. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01911.x

Vogelweith F, Dourneau M, Thiéry D, Moret Y, Moreau J (2013a) Geographical variation in parasitism shapes larval immune function in a phytophagous insect. Naturwissenschaften 100:1149–1161. https://doi.org/10.1007/s00114-013-1119-1

Vogelweith F, Moret Y, Thiery D, Moreau J (2013b) *Lobesia botrana* larvae develop faster in the presence of parasitoids. PLoS ONE 8:e72568. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072568

Vogelweith F, Thiéry D, Moret Y et al (2014) Defense strategies used by two sympatric vineyard moth pests. J Insect Physiol 64:54–61. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.03.009

Xuéreb A, Thiéry D (2006) Does natural larval parasitism of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) vary between years, generation, density of the host and vine cultivar? Bull Entomol Res 96:105–110. https://doi.org/10.1079/BER2005393

Yin J, Sun Y, Ge F (2014) Reduced plant nutrition under elevated CO_2 depresses the immunocompetence of cotton bollworm against its endoparasite. Sci Rep 4:4538. https://doi.org/10.1038/srep04538

Zylberberg M, Klasing KC, Hahn TP (2013) House finches (*Carpodacus mexicanus*) balance investment in behavioural and immunological defences against pathogens. Biol Lett 9:20120856. https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0856

CONCLUSIONS MAJEURES DU CHAPITRE

Cette étude met en exergue une diversité de réponses entre traits défensifs à une hausse de température moyenne, puisque celle-ci a provoqué des effets aussi bien positifs (développement), neutres (barrière morphologique) que négatifs (barrières comportementale et immunitaire) sur l'expression des différents traits examinés (Fig.25). Sans grande surprise, la durée de développement larvaire raccourcit graduellement à mesure que la température moyenne augmente, puisque la gamme de températures moyennes appliquée (22-25-28°C) reste inférieure à l'optimum thermique de développement chez cette espèce, compris entre 28 et 30°C pour une souche de laboratoire comme celle utilisée au cours de cette expérience (Briere and Pracros, 1998). Au seul regard de la barrière développementale, le réchauffement pourrait donc accroître les capacités de résistance des chenilles face aux parasitoïdes, en réduisant significativement la fenêtre d'action pour ces ennemis naturels.

De telles conclusions doivent, cependant, être modérées puisque des effets négatifs de la température ont été observés sur les barrières comportementales (comportements de torsion et de chute) et immunitaires (charge en hémocytes et activité totale de la phénoloxidase), auparavant décrites comme les deux composantes majeures du système défensif des chenilles d'eudémis contre les parasitoïdes larvaires (Vogelweith et al., 2014). Les conséquences fonctionnelles de ces altérations comportementales et immunitaires sur les capacités des chenilles à se prémunir de la ponte et le développement du parasitoïde doivent encore être évaluées. Ceci est d'autant plus vrai que, en tant qu'organismes ectothermes, les insectes parasitoïdes vont eux aussi subir des modifications physiologiques et comportementales consécutives à des changements de température se produisant dans leur environnement (Hance et al., 2007; Jeffs and Lewis, 2013; van Baaren et al., 2010). À l'instar de la résistance de l'hôte, la virulence du parasitoïde (sa capacité à surmonter les barrières défensives arborées par l'hôte) doit également présenter un certain degré de sensibilité à la température (Seehausen et al., 2017a).

En résumé, cette étude appuie l'importance d'adopter une vision relativement intégrative de la biologie d'une espèce donnée, en incorporant des mesures sur un panel de traits assez large, dans le but de prédire comment cette espèce et les interactions qui l'impliquent peuvent répondre au changement climatique.

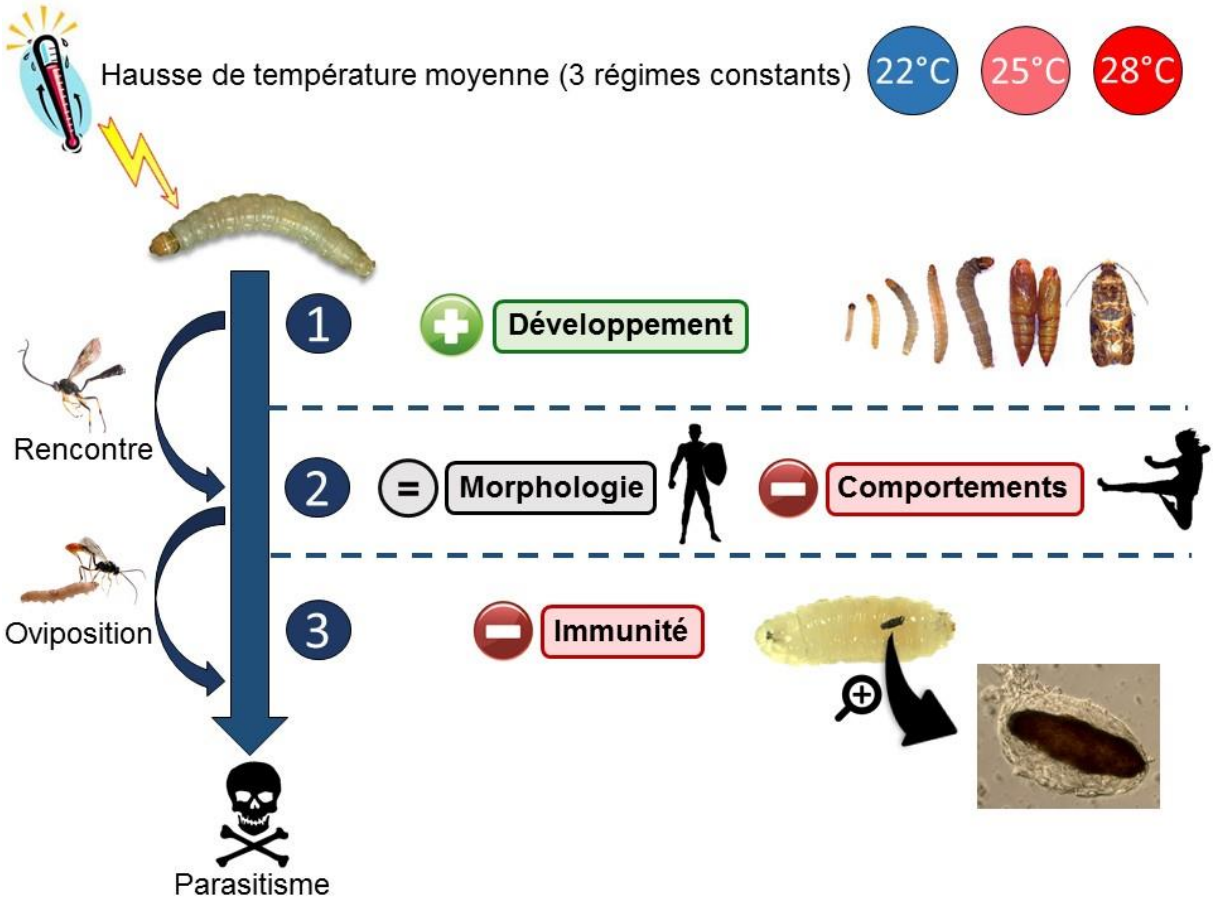


Figure 25 : *Schéma récapitulatif des principaux résultats du Chapitre III (Manuscrit 1). L'étude vise à estimer les impacts d'une augmentation de température moyenne (individus élevés à trois températures constantes : 22, 25 ou 28°C) sur les différentes barrières impliquées dans le système défensif des chenilles d'eudémis* (L. botrana) *contre les parasitoïdes larvaires. La hausse des températures a eu un effet positif sur le développement considéré en tant que trait défensif (durée de développement larvaire écourtée), laissant ainsi suggérer une fenêtre temporelle de vulnérabilité réduite face aux parasitoïdes larvaires. Aucun effet perceptible n'a été observé pour la barrière morphologique (épaisseur et résistance du tégument). En revanche, les barrières comportementale et immunitaire ont été négativement affectées par le réchauffement expérimental appliqué, pouvant impliquer une capacité diminuée des chenilles à empêcher l'oviposition et le développement du parasitoïde, respectivement.*

Chapitre IV

Cas des régimes fluctuants et modélisation climatique : réponse du ravageur et de son interaction avec un parasitoïde oophage à une imitation locale du réchauffement climatique

CONTEXTE GÉNÉRAL DU CHAPITRE ET OBJECTIFS

Le Chapitre III a révélé une sensibilité à la température environnementale pour la majorité des traits défensifs (développement, comportements d'évasion, immunité) et d'histoire de vie (masse de la chrysalide, taux de croissance) étudiés chez les larves d'eudémis. Il a également permis de caractériser une forme de variabilité entre traits dans la réponse à une élévation de la température moyenne, accentuant par le fait l'importance de la considération d'un large éventail de traits reliés à la biologie et à l'écologie d'une espèce d'intérêt pour prédire sa réponse au changement climatique. Toutefois, le Chapitre III laisse en suspens plusieurs interrogations majeures dont le traitement est indispensable afin d'améliorer la compréhension des effets du réchauffement sur l'eudémis et sur les deux niveaux trophiques (plante hôte et parasitoïdes) qui lui sont directement associés dans le contexte écologique des relations tritrophiques. Ainsi, trois axes principaux, chacun impliquant une étude et un manuscrit, sont développés dans ce Chapitre IV.

Premièrement, les conclusions du Chapitre III sont dérivées d'un design expérimental faisant intervenir une comparaison de régimes constants. Dans la communauté scientifique, il est aujourd'hui largement admis que l'utilisation de températures non variables s'avère être une simplification exagérée de la réalité écologique (Colinet et al., 2015; Estay et al., 2014; Fischer et al., 2011). En milieu naturel, les organismes sont exposés à des températures qui fluctuent aussi bien dans le temps (ex : variations nycthémérales des températures) que dans l'espace (ex : mosaïque de conditions microclimatiques) (Colinet et al., 2015; Potter et al., 2013). L'exemple des fluctuations thermiques quotidiennes est sûrement le plus illustratif de l'importance de la variabilité thermique pour la performance des organismes ectothermes dans un contexte de réchauffement climatique. En effet, les conséquences de ces fluctuations en termes de performance individuelle peuvent être appréhendées en considérant à la fois la température moyenne autour de laquelle cette variabilité thermique s'opère et la sensibilité thermique de l'espèce étudiée (Bozinovic et al., 2011; Colinet et al., 2015; Estay et al., 2014, voir la section du 3.2. du Chapitre I, ci-dessus). À mesure que la température moyenne augmente dans un environnement thermique fluctuant, le risque de dépassement de l'optimum thermique d'une espèce durant les heures les plus chaudes du cycle journalier est de plus en plus important. Ainsi, la variabilité thermique pourrait constituer un stress

supplémentaire pour les organismes soumis à des conditions de plus en plus chaudes (Vasseur et al., 2014). Des comparaisons de performance entre régimes constants (Chapitre III) ou fluctuants (intégrant la manière dont les fluctuations peuvent interagir avec différentes températures moyennes pour affecter la physiologie d'une espèce) peuvent donc conduire à des conclusions radicalement différentes quant aux impacts attendus du réchauffement sur une espèce d'intérêt. Il apparaît donc indispensable d'intégrer des patterns réalistes de fluctuations thermiques journalières afin d'affiner les conclusions quant à la réponse d'eudémis au réchauffement climatique, ce qui est l'objectif développé dans le Manuscrit 2 de ce chapitre. En outre, le recours à la modélisation climatique va permettre de simuler l'évolution possible du climat à une échelle locale, échelle spatiale relativement pertinente pour prédire les changements pouvant se produire dans l'environnement thermique direct des insectes.

Deuxièmement, le Chapitre III s'est focalisé sur le stade larvaire et l'étude des traits a été réalisée dans une optique de prédiction des capacités de résistance future des chenilles face aux parasitoïdes. Toutefois, il a révélé que d'autres traits, pouvant permettre d'inférer le succès de reproduction des adultes, sont également susceptibles d'être affectés par une augmentation des températures. En outre, une augmentation de la masse de la chrysalide des femelles comme celle observée dans les régimes les plus chauds pourrait s'accompagner d'un accroissement de leur fécondité, et donc agir positivement sur la dynamique des populations d'eudémis. Par ailleurs, un raccourcissement de la durée du stade larvaire avec la température implique, chez cette espèce à reproduction sur capital, une réduction de la durée du stade s'alimentant. Les conséquences de cette diminution du temps pouvant être alloué à l'accumulation de réserves doivent donc être évaluées, en particulier pour le potentiel de reproduction des adultes. Cet objectif sera celui du Manuscrit 3 du présent chapitre, qui va s'intéresser aux effets de régimes fluctuants appliqués dès le premier stade larvaire sur le potentiel de reproduction de chaque sexe. En outre, le Manuscrit 3 proposera des pistes de réflexion pour l'amélioration des modèles prédictifs de dynamique des populations d'eudémis dans le contexte du réchauffement climatique, qui tendent encore à négliger certains aspects clés de la biologie de l'espèce, en particulier l'importance du rôle joué par les mâles dans le potentiel de reproduction des femelles (Gilioli et al., 2016; Gutierrez et al., 2012; Gutierrez et al., 2017).

Troisièmement, si le Chapitre III a permis d'éclairer la manière dont les conditions thermiques peuvent moduler le système défensif des chenilles, et déterminer leur degré de vulnérabilité potentielle face à une attaque de parasitoïde, il n'en est pas moins que les conséquences de la température pour le devenir de l'interaction entre *L. botrana* et le niveau trophique supérieur restent inexplorées. L'objectif du Manuscrit 4 de ce chapitre est d'évaluer comment les modifications, induites par la température, de la qualité de l'hôte pour le parasitoïde peuvent se répercuter au niveau de l'interaction entre les deux antagonistes. L'étude se porte sur le complexe constitué par les œufs de *L. botrana* et le parasitoïde oophage *Trichogramma cacoeciae*. L'originalité de l'étude repose sur l'intégration de deux voies d'action de la température sur la qualité des œufs hôtes pour le trichogramme. La première est qualifiée d'indirecte (ou parentale), et implique que les conditions thermiques connues par la génération parentale d'hôtes peuvent altérer la susceptibilité des œufs pondus vis-à-vis des parasitoïdes oophages (Donelson et al., 2018; Geister et al., 2009; Janowitz and Fischer, 2011). La seconde voie d'action de la température, directe, intervient lorsque les œufs hôtes sont soumis à différentes conditions thermiques, avant ou après leur exposition aux parasitoïdes. Ainsi, cette étude cherche à évaluer les parts d'importance relatives des effets thermiques indirects et directs sur la résistance des œufs de *L. botrana* face à *T. cacoeciae*. Elle met en œuvre un design expérimental dans lequel deux générations successives d'hôtes (la génération parentale et la génération d'œufs) sont soumises à des conditions thermiques contrastées (les deux régimes fluctuants déjà utilisés dans les Manuscrits 2 et 3) (Fig.26).

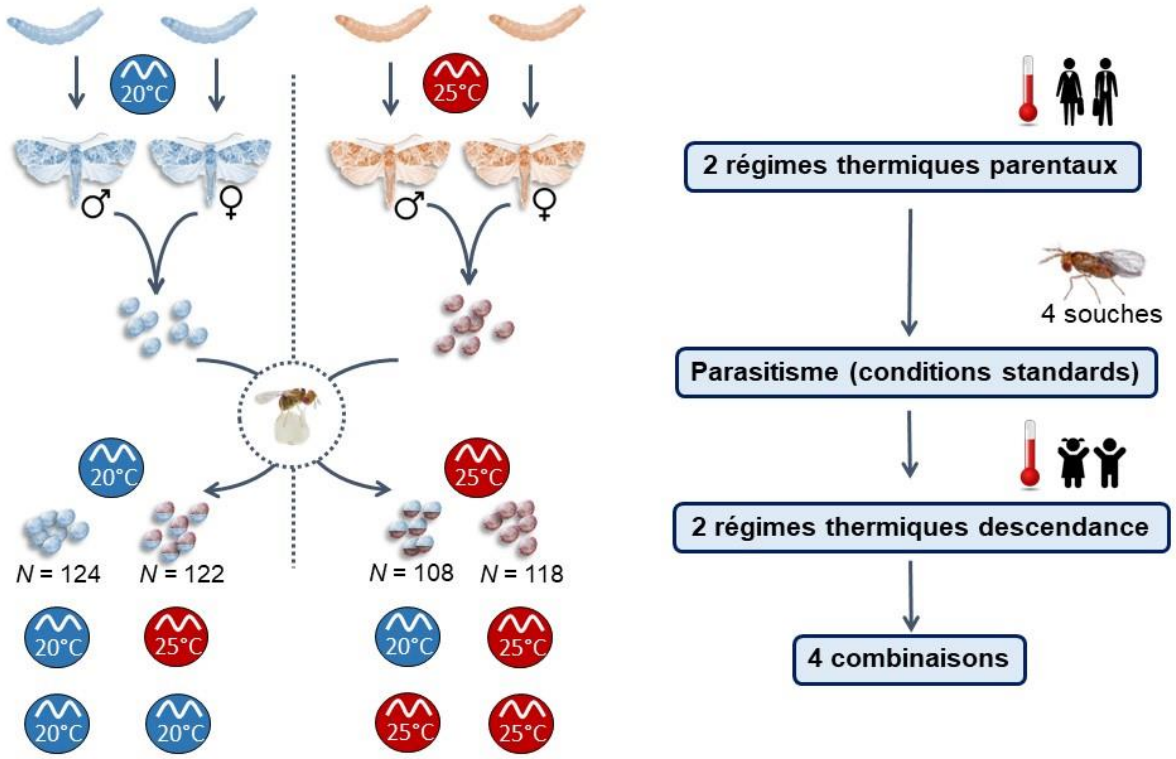


Figure 26 : *Schéma du design expérimental mis en œuvre dans le Manuscrit 4 du Chapitre IV. L'étude cherche à quantifier l'importance relative des effets thermiques indirects (parentaux) et directs dans la modulation de la vulnérabilité des œufs hôtes d'eudémis* (L. botrana) *face au parasitoïde oophage* T. cacoeciae. *Elle met en œuvre un design bifactoriel complet. La génération parentale d'hôtes est élevée du stade L1 jusqu'à la reproduction de l'adulte dans un des deux régimes thermiques fluctuants utilisés dans les Manuscrits 2 et 3 (de température moyenne environ égale à 20 ou 25°C, voir la section 3.2. du Chapitre II ci-dessus). Une fois pondue, la descendance de la génération parentale (œufs hôtes) est exposée à l'une des quatre souches du parasitoïde sous des conditions standards contrôlées, avant d'être distribuée aléatoirement entre les deux régimes fluctuants précédemment décrits pour incubation. Ce design expérimental mène donc à quatre possibilités, définies chacune par la combinaison de la température connue par la génération parentale pour son développement et de celle connue par les œufs hôtes pour l'incubation après leur exposition au parasitoïde.*

MANUSCRIT 2

Are life history traits equally affected by global warming? A case study combining multi-trait approach with fine grain climate modeling

Corentin Iltis[a], Philippe Louâpre[a], Karolina Pecharová[a], Denis Thiéry[b], Sébastien Zito[a], Benjamin Bois[a], and Jérôme Moreau[a]

[a] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[b] *UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.*

Publié dans *Journal of Insect Physiology* (2019)

doi : 10.1016/j.jinsphys.2019.103916

Journal of Insect Physiology 117 (2019) 103916

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Insect Physiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jinsphys

Are life-history traits equally affected by global warming? A case study combining a multi-trait approach with fine-grain climate modeling

Corentin Iltis[a,*,1], Philippe Louâpre[a], Karolina Pecharová[a], Denis Thiéry[b], Sébastien Zito[a], Benjamin Bois[a], Jérôme Moreau[a]

[a] UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France
[b] UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France

ARTICLE INFO

Keywords:
Climate models
Defensive behaviors
Energetic reserves
Global warming
Immunity
European grapevine moth

ABSTRACT

Predicting species responses to climate change requires tracking the variation in individual performance following exposure to warming conditions. One ecologically relevant approach consists of examining the thermal responses of a large number of traits, both related with population dynamics and trophic interactions (i.e. a multi-trait approach). Based on *in situ* climatic data and projections from climate models, we here designed two daily fluctuating thermal regimes realistically reflecting current and future conditions in Eastern France. These models detected an increase in mean temperature and in the range of daily thermal fluctuations as two local facets of global warming likely to occur in our study area by the end of this century. We then examined the responses of several fitness-related traits in caterpillars of the moth *Lobesia botrana* – including development, pupal mass, survival rates, energetic reserves, behavioral and immune traits expressed against parasitoids – to this experimental imitation of global warming. Increasing temperatures positively affected development (leading to a 31% reduction in the time needed to complete larval stage), survival rates (+19%), and movement speed as a surrogate for larval escape ability to natural enemies (+60%). Conversely, warming elicited detrimental effects on lipid reserves (−26%) and immunity (total phenoloxidase activity: −34%). These findings confirm that traits should differ in their sensitivity to global warming, underlying complex consequences for population dynamics and trophic interactions. Our study strengthens the importance of combining a multi-trait approach with the use of realistic fluctuating regimes to forecast the consequences of global warming for individuals, species and species assemblages.

1. Introduction

Temperature is undeniably one of the most important factors determining individual performance, species evolution and distribution (Angilletta, 2009; Clarke, 2003). In ectothermic animals like insects, whose body temperature and performance are closely related with environmental temperature, the link between a surrogate for individual performance (e.g. development and growth rates, reproductive output) and environmental temperature is typically modeled by an asymmetric and unimodal curve called a thermal performance curve (Martin and Huey, 2008; Sinclair et al., 2016). As temperature increases, individual performance gently rises to a single maximum value associated with a thermal optimum, and thereafter performance declines rapidly.

Thermal performance curves may help to predict how organisms will cope with changes occurring in their thermal environment, such as those related with anthropogenic climate disturbance (Deutsch et al., 2008; Estay et al., 2014; Sinclair et al., 2016). Indeed, one commonly used way to assess the biological consequences of global warming consists of experimentally tracking the variation in organism's performance following exposure to warming conditions designed to simulate future temperatures (for examples, see Bauerfeind and Fischer, 2014; Fischer et al., 2014; Klockmann et al., 2016). In this regard, it is now widely accepted that comparing fluctuating thermal regimes (instead of constant temperatures) significantly improves the ecological realism of global warming experiments, considering the daily variations of temperatures experienced by organisms in their natural settings (Bozinovic et al., 2016, 2011; Colinet et al., 2015; Paaijmans et al., 2013; Zeh et al., 2015). The existing literature suggests complex patterns of biological responses to warmer conditions because of the combined effects of mean temperature and thermal fluctuations on individual performance

* Corresponding author.
E-mail address: corentin.iltis@u-bourgogne.fr (C. Iltis).
[1] ORCID: 0000-0002-1379-8029.

https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.103916
Received 12 February 2019; Received in revised form 8 July 2019; Accepted 21 July 2019
Available online 22 July 2019
0022-1910/ © 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

(Colinet et al., 2015; Estay et al., 2014; Kingsolver et al., 2015). Part of this variability in thermal responses might be explained by Jensen's inequality, which applies to non-linear functions such as those inherent to thermal performance curves (Martin and Huey, 2008). Jensen's inequality posits that thermal fluctuations around a mean temperature below the thermal optimum (i.e. in the concave part of the thermal performance curve) will enhance performance, while the reverse trend should be observed once the mean temperature of the thermal regime exceeds the thermal optimum, in the convex part of the thermal performance curve (Bozinovic et al., 2011; Foray et al., 2014; Kingsolver et al., 2015; Paaijmans et al., 2013; Terblanche et al., 2010). In a context of fluctuating thermal environments, an increase in mean temperature attributable to global warming could be expected to depress organism performance through transient or permanent exposure to stressful thermal conditions during the warmest hours of the cycle (Colinet et al., 2015; Paaijmans et al., 2013; Vasseur et al., 2014). This is especially true if the increase in mean temperature is accompanied with a widening of thermal fluctuations (Paaijmans et al., 2013; Terblanche et al., 2010; Vasseur et al., 2014). Indeed, high levels of temperature variance have been shown to decrease an organism's ability to tolerate a thermal stress by limiting the expression of plastic responses and reducing the possibility for appropriate acclimation process to take place (Terblanche et al., 2010).

Responses to warming conditions might, however, greatly vary depending on the biological traits measured to infer individual performance, thereby highlighting the need for a multi-trait approach – involving measurements on a large number of traits – in global warming experiments (Fischer et al., 2011; Karl et al., 2011; Laughton et al., 2017). Indeed, fitness-related traits in a given species might differ regarding their thermal optima and associated thermal performance curves (Laughton et al., 2017; Seehausen et al., 2017). Experimental warming might thus yield different effects on the expression of these traits depending on whether thermal conditions applied encompass supraoptimal temperatures for the expression of the traits considered. For instance, in the Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae), a rise in mean constant temperature from 20 °C to 30 °C led to an almost twofold decrease in developmental time from egg to adult, while reducing adult lifespan after mating by 32% and increasing the count of immune cells (hemocytes) in larvae hemolymph by more than 50% (Laughton et al., 2017). Furthermore, biological traits are linked to each other by energetic trade-offs and thermal conditions are known to influence resource allocation towards different functions. Convincing examples entail trade-offs between immunity and reproduction (Adamo and Lovett, 2011) as well as between immunity and heat tolerance (Fischer et al., 2011; Karl et al., 2011). Experimental studies employing a multi-trait approach usually incorporate both traits linked with population dynamics (e.g. development and growth rates, survival rates, egg production) and interspecific relationships (e.g. defensive traits such as defensive behaviors and immunity) (Iltis et al., 2018; Karl et al., 2011; Laughton et al., 2017). Indeed, the former help to predict the future population dynamics of the focal species, but species will not respond in isolation to climate disturbance as they are tightly connected by ecological linkages, more specifically trophic interactions (Jeffs and Lewis, 2013; Van der Putten et al., 2010). Integrating defensive traits involved in interspecific relationships – such as host-parasitoid associations – is thus crucial to provide significant insight into how a given species might respond to global warming with respect to its associated ecological context (Iltis et al., 2018). In spite of a fairly robust literature about the effects of thermal fluctuations on performance in a climate change perspective, still few studies have to date associated the ecological realism provided by the use of realistic fluctuating regimes with the multi-trait approach, measuring different traits related with both population dynamics and species interaction (for examples, see Fischer et al., 2014; Klockmann et al., 2016). Consequently, little is known about the effects of realistic daily thermal cycles on the expression of a broad series of traits within the framework of global warming. Filling this knowledge gap could improve our mechanistic understanding of the responses of traits, individuals and populations to facets of climate change.

In this context, we here explored the consequences of global warming simulated at a local scale for several aspects of an insect's performance. To realistically simulate global warming under controlled conditions, we built two daily fluctuating regimes: one current regime according to local climate observations and one future regime according to the fine-grain predictions provided by climate models in our focal area (Eastern France). We focused on caterpillars of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae), one of the most severe pests for wine-making activity in Palearctic region (Thiéry et al., 2018). We adopted a global view of the insect's performance encompassing a large number of fitness-related traits, such as development time, pupal mass, survival rates, and the storage patterns of four energetic compounds. In a wider ecological context, we also focused on the abilities of the caterpillars to survive in agroecosystems when faced with natural enemies, especially parasitoids, by examining larval defensive strategies that involve behavioral defenses (aimed at avoiding parasitoid oviposition) and immune defenses (aimed at killing parasitoid eggs) (Iltis et al., 2018; Vogelweith et al., 2014).

We hypothesized that biological traits included in this study should respond in different ways to our simulation of future climates that might be experienced in the same location. Given its tight dependence on environmental temperature as a pure physiological rate (Rebaudo and Rabhi, 2018), we expected larval development to be greatly reduced by warming. The thermal response of larval development should in turn determine the time allowed for feeding in this capital breeding species (i.e. only caterpillars feed), thereby negatively impacting pupal mass and energetic reserves. We expected defensive behaviors to display more complex patterns of responses to warming, as the thermal modulation of insect behavior is not purely metabolic, that is, does not only arise from short-term variation in metabolic rates or long-term variation in individual physiological state (e.g. amounts and allocation of energetic reserves) ('kinetic effects', Abram et al., 2017). It also involves intentional behavioral adjustments in response to the perception and the integration of thermal information received by thermosensory organs ('integrated effects', Abram et al., 2017). All of these possible effects were included in our experimental design which sought to investigate the overall impacts of warming on the expression of defensive behaviors to infer the future ability of caterpillars to fend off parasitoids. Finally, we postulated that immunity should be negatively affected by high temperatures because immune function in *L. botrana* caterpillars is known to peak at a relatively low thermal optimum (22 °C or less) (Iltis et al., 2018).

2. Material and methods

2.1. Thermal regimes

We compared the performance of *L. botrana* caterpillars experiencing two daily fluctuating thermal regimes representative of current and future conditions occurring in Burgundy, Eastern France (Longvic-Dijon weather station, 47,27°N; 5,09°E; altitude = 219 m) (www.meteofrance.com). We focused on the summer period extending from 15th July to 15th August because this one-month period is particularly favorable for *L. botrana*, as indicated by one peak of activity (adult moths emergence) over this date range (Barnay et al., 2001; Martín-Vertedor et al., 2010). A curve of current thermal conditions was designed according to a 20-year recording of *in situ* hourly temperatures (from 1995 to 2014). Based on this curve, we built a mean daily cycle divided into six segments, each lasting 4 h and calculated as the mean segment over the 30 days (15th July–15th August) and the 20-year period studied (Table 1). Hereafter, this thermal regime will be referred to as the current regime.

Alongside the current regime, we built the future regime simulating

Table 1
Temperature conditions (°C) for the two daily fluctuating regimes used in this study: the current regime and the future regime, each divided into 6 segments of 4 h. Daily thermal range is defined as the difference between maximum and minimum daily temperatures.

	Current regime	Future regime
0 h–4 h	16.4	21.4
4 h–8 h	17.8	22.9
8 h–12 h	22.3	27.8
12 h–16 h	24.9	30.5
16 h–20 h	22.9	28.3
20 h–0 h	19.0	24.2
Mean temperature	20.5	25.8
Daily thermal range	8.5	9.1

the local conditions that might be found in Burgundy by the end of this century (2081–2100), during the summer period extending from 15th July to 15th August. We selected the most pessimistic of the Representative Concentration Pathways scenarios, called RCP 8.5, which predicts the highest positive radiative forcing (i.e. a high absorbance of solar and infrared radiation) associated with massive and growing emissions of greenhouse gas (www.drias-climat.fr). This scenario was combined with six simulations of high-resolution mesh (8 km) applied to the closest point to Dijon (Burgundy). Each simulation was obtained by downscaling a General Circulation Model (GCM) with a Regional Climate Model (RCM) to increase the spatial accuracy of climate predictions. Both GCMs and RCMs are climate tools that enable to follow the evolution of a climate system over time, at different spatial scales: global scale for GCMs, regional or local scale for RCMs nested within GCMs (for more details about the use of climate models in ecology, see Beaumont et al., 2008; Ziter et al., 2012). The six combinations of GCM/RCM used were: CERFACS-CNRM/RCA4, ICHEC-EC-EARTH/RCA4, MPI-ESM-LR/CCLM4, MPI-ESM-LR/REMO019, MPI-ESM-LR/RCA4, MetEir-ECEARTH/RACMO22E. These combinations have been recently used to generate simulations of climate change at small spatial scales across Europe (Alfieri et al., 2015; Dosio, 2016; Kotlarski et al., 2014). We used GCMs originating from the Coupled Model Intercomparison Project Phase 5 (CMIP5), a recent multi-model ensemble widely used to produce climate projections in the context of anthropogenic climate change (Taylor et al., 2012). All the RCMs used to generate downscaled simulations came from the Coordinated Regional Climate Downscaling Experiment across Europe (EURO-CORDEX) and were adapted to downscale the outputs of the GCMs used (Dosio, 2016; Jacob et al., 2014). All data are available on the Drias portal (www.drias-climat.fr). For each simulation, daily maximum and minimum air temperatures were extracted. We then generated six future mean daily cycles (one for each simulation) based on simulated maximum and minimum temperatures and the present daily cycle. The future regime, as the current regime, was composed of six segments of 4 h, each calculated as the mean segment over the six simulations performed (Table 1). Comparison between current and future regimes reveals that global warming should increase both the mean temperature (+5.3 °C) and the daily thermal range (+0.6 °C) in our focal area (Table 1).

2.2. Insect stock and larvae collection

We used larvae originating from an inbred and diapause free strain of *L. botrana* maintained at the French National Institute for Agricultural Research (INRA, Villenave d'Ornon, France) for several years under controlled conditions. This stock consists of a large number of caged adults (several thousand per week), to which wild individuals were regularly added to preserve genetic diversity. Hence, larvae coming from this artificial stock display similar patterns of defensive behaviors and basal immunity compared with wild individuals collected in French vineyards (Vogelweith et al., 2014). Moths were reared under standard conditions (20 ± 0.5 °C, 60 ± 5% relative humidity, photoperiod of L17: D6 and 1 h of dusk). Luminosity was 600 lx during photophase and 100 lx at dusk. Two bands of waxed paper were provided as a support for oviposition. Every 2 days, these papers were renewed and transferred to a plastic box covered by a moist piece of paper towel to avoid egg desiccation until hatching.

A total of 2246 freshly-hatched larvae (aged < 24 h) were collected throughout the experiments with a fine brush and individually reared in Eppendorf tubes filled with 1.5 ml of artificial medium (composition for 1000 ml: 1000 ml water, 15 g agar, 86.6 g maize flour, 41.3 g wheat germ, 45.5 g beer yeast, 6 g ascorbic acid, 3.4 g mineral salt, 0.32 g Scala®, 2.7 g benzoic acid, 2.8 g Nipagin® and 5 ml 95% ethanol) (Thiéry and Moreau, 2005). Neonate caterpillars were isolated in tubes so that no larval competition could occur and introduce an experimental bias (Thiéry et al., 2014). Tube caps were pierced and covered by a piece of fine mesh fabric to allow air circulation while preventing larvae from escaping. Individuals were randomly assigned to two incubators (ST 2/2 BASIC, Pol-Eko Aparatura), each simulating one of the two thermal regimes described above (temperature ± 0.1 °C, 50 ± 10% relative humidity, L18: D6, 650 lx). In order to avoid a potential incubator effect, larvae and their associated thermal regime were switched between climate chambers two times a week, as well as the location of individuals inside the new incubator. Temperatures within the climate chambers were tracked weekly with an independent data logger (Hobo, Onset Computer Corporation), and did not deviate from the thermal regimes programmed during the whole course of the experiments. Larval development was surveyed when caterpillars were swapped between incubators (i.e. two times a week) to minimize disturbance. Once they reached their fifth – and final – instar stage, larvae were randomly assigned to one of three experimental groups all along the experiments, because the different measurements of biological traits involved in this study cannot be taken on a single individual. We focused on the fifth instar because the energetic resources accumulated during the whole larval stage can be quantified at this late larval instar that directly precedes pupation. In addition, measurements of behavioral and immune defenses against parasitoids are classically performed at the end of larval development in this species (Iltis et al., 2018; Vogelweith et al., 2014). In Group 1, the fifth instar larvae were left until pupation in order to measure development time, pupal mass, survival from first instar larva to adult stage, and sex ratio. In Group 2, the fifth instar larvae were frozen and stored to quantify later their energy budgets. In Group 3, the behavioral and immune traits involved in defense of fifth instar caterpillars against larval parasitoids were measured.

2.3. Group 1: development time, pupal mass, survival and sex ratio

A total of 2043 freshly hatched larvae were initially assigned to Group 1 in order to develop until pupation (n = 981 individuals for current regime, n = 1062 individuals for future regime). We recorded the time (in days) elapsed between hatching and pupation (i.e. the development time of the larval stage), which corresponds to the time during which caterpillars are able to feed. The pupae were collected carefully with fine forceps and weighed (± 0.1 mg) with a balance (Pioneer PA214C, OHAUS). Development time and pupal mass were only recorded for individuals that reached the adult stage to discriminate the results between males and females, which were sexed upon emergence. We also calculated survival (number of emerged adults relative to the number of freshly hatched larvae initially assigned to each thermal regime), and sex ratio (expressed as the proportion of males in the adult population).

2.4. Group 2: energetic assessments

These measurements initially involved 59 fifth instar larvae (n = 29

for current regime, $n = 30$ for future regime). Caterpillars were cleaned with a fine brush to remove any residual of artificial medium from the surface of their body, transferred to Eppendorf tubes, frozen in liquid nitrogen and kept at −80 °C for latter quantification of their energy budgets. They were subsequently weighed to obtain fresh body mass (± 0.01 mg) with a microbalance (Quintix 35–15, Sartorius), before being crushed with stainless steel beads (tubes shaken for 90 s at 25 Hz) in 180 µl of aqueous lysis buffer solution (composition: 100 mM KH_2PO_4, 1 mM dithiothreitol DTT, 1 mM ethylenediaminetetraacetic EDTA, pH = 7.4). Biochemical assays were run on four metabolites potentially involved in energy production: proteins, lipids, soluble carbohydrates and glycogen. The total amount of soluble proteins available was estimated using a DC Protein Assay kit (Bio-Rad). We used the spectrophotometry method described by Foray et al. (2012) for the quantification of lipids, soluble carbohydrates and glycogen.

Crushed samples were placed on ice for 30 min to ensure proteins solubilization, centrifuged (4000*g*, 5 min, 4 °C) and 5 µl of supernatant from each sample were pipetted to microplate wells together with 35 µl of lysis buffer to obtain diluted samples. Particular attention was paid to avoid collecting lipids (which often form a thin surface layer on the top of the sample) when pipetting the 5 µl of supernatant for protein assays, because lipids might disturb the absorbance readings in the Bradford approach used to quantify proteins (Foray et al., 2012). Then, 5 µl of these diluted samples were transferred to new microplate wells and supplemented with 225 µl of Bradford micro-assay reagent (DC Protein Assay Kit, Bio-Rad). Reaction was allowed to proceed for 15 min at room temperature, after which absorbance readings were taken at 750 nm. Protein concentration in the samples was estimated with a standard curve based on a dilution-series of bovine gamma globulin standard (Pierce, Thermo Fisher Scientific) dissolved in lysis buffer. This dilution-series was constituted by the following protein concentration values: 0, 0.062, 0.125, 0.25, 0.5, 1 and 2 $mg.ml^{-1}$. Finally, 5 µl of lysis buffer, 20 µl of 20% sodium sulphate solution and 1.5 ml of chloroform–methanol mixture (1:2 v/v) were added to each crushed sample to solubilize total lipids and water-soluble carbohydrates. These samples were then conserved at room temperature for 24 h before biochemical assays of the amounts of lipids, soluble carbohydrates and glycogen.

At the end of this 24 h duration, homogenates were centrifuged at room temperature (4800*g*, 6 min). Centrifugation enabled to isolate lipids and soluble carbohydrates (supernatant) from glycogen (pellet). Determination of lipid body amount was performed with a colorimetric method involving vanillin reagent (Alfa Aesar, Thermo Fischer Scientific). For each centrifuged sample, 75 µl of supernatant were transferred to an Eppendorf tube and heated at 90 °C until complete solvent evaporation. Then, each tube was supplemented with 40 µl of 95–98% sulphuric acid and incubated at 90 °C for 10 min. For lipids revelation, 960 µl of vanillin solution (composition: 100 ml ultrapure water, 400 ml 85% orthophosphoric acid, 600 mg vanillin) were then deposited in each tube. After vigorous vortexing, 200 µl of each tube were pipetted to microplate wells for absorbance measurements, which were taken at 525 nm. The dilution-series used to assess lipid concentration in the samples involved glyceryl trioleate as a standard (Sigma-Aldrich) dissolved in chloroform, and was comprised by the following concentration values: 0, 2.5, 5, 10, 20, 40 and 80 $\mu g.ml^{-1}$. The body amounts of both soluble carbohydrates and glycogen were determined with a colorimetric method based on anthrone reagent (Alfa Aesar, Thermo Fisher Scientific). For soluble carbohydrates, 750 µl of supernatant from each centrifuged sample were collected and deposited in an Eppendorf tube, before being allowed to fully evaporate at 95 °C. For glycogen, the remaining supernatant in the centrifuged samples was removed and the pellet was left at room temperature during 30 min for complete solvent evaporation. Then, 2 ml of anthrone solution (composition: 150 ml ultrapure water, 380 ml 95–98% sulfuric acid, 750 mg anthrone) were added to each tube (containing either soluble carbohydrates or glycogen), and all these tubes were heated at 95 °C for 17 min. Tubes were subsequently vortexed and 200 µl of each were withdrawn and deposited in microplate wells before readings of optical density, which were performed at 625 nm. The concentration of these two energetic compounds in the samples was estimated through comparison with a dilution-series constituted by the following concentration values of glucose (Sigma-Aldrich): 0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 and 400 $\mu g.ml^{-1}$.

For proteins and lipids, two replicates were performed and individuals for which the coefficient of variation exceeded 30% were excluded from further analysis. Repeatability was relatively high, as indicated by the low percentages of individuals removed from the protein (8.5%) and the lipid datasets (5.1%). At the end of this selection procedure, we retained 54 larvae from the protein dataset ($n = 27$ for current regime, $n = 27$ for future regime) and 56 larvae from the lipid dataset ($n = 29$ for current regime, $n = 27$ for future regime).

2.5. Group 3: behavioral and immune defenses

A total of 144 fifth instar larvae were assigned to measurements of defensive traits ($n = 73$ individuals for current regime, $n = 71$ individuals for future regime). Three successive behaviors were quantified, always in the same order ('flee', 'twisting' and 'dropping'), in accordance with the sequence involved in defense against larval parasitoids in natural conditions (Vogelweith et al., 2014). Additionally, these behavioral tests were performed at an ambient temperature strictly identical to the mean temperature of the regime considered: 20.5 °C if the tested individual was reared in current regime, or 25.8 °C if it was reared in future regime (Table 1). Temperature in the testing rooms was controlled with Hobo data loggers. After the completion of each behavioral test, 20 min of rest were given to each larva in a clean Eppendorf tube drilled to allow air circulation before the next test started.

The first behavior studied, called 'flee', refers to larvae escape ability by moving away from a generic threat without leaving the bunch they feed on. Here, we estimated the locomotor activity (movement speed) of caterpillars as a proxy of 'flee' behavior, to infer their ability to evade parasitoids in natural conditions. For this purpose, caterpillars were installed on a plastic squared sheet (84 × 116 cm, squares size: 1 × 1 cm) and acclimated for 30 s under the lid of a Petri dish. The lid was then removed and each larva was observed to count the total number of lines crossed during 60 s (the minimum duration required by a larva to exit the sheet). As this behavior occurs before physical contact between the caterpillar and the parasitoid, no simulation of a parasitoid attack was needed to cause the larvae to flee. Locomotor activity was naturally induced by the stress associated with the manipulation of caterpillars with a fine paintbrush during the extraction from their rearing tube, and their exposure to a new environment during behavioral tests.

The second behavior, 'twisting', consists of multiple and rapid torsions in response to contact between a larva's body and a parasitoid sting. We mimicked a parasitoid attack by touching the dorsal part of the caterpillar with a fine brush, after 30 s of acclimation under the lid of a Petri dish. Each individual was touched four times in 1 min. The entire sequence was video recorded (HDR-CX220E, Sony) and further analyzed in slow motion with Kinovea 0.8.15 software to score the total number of torsions over the four touches.

Finally, we examined 'dropping' behavior, which describes how caterpillars faced with a foraging parasitoid can drop and weave a silk thread to return to their living patch once the parasitoid has left it. Larvae were installed at the top of a 150 cm high bracket. After an acclimation of 30 s under a reversed Eppendorf tube, each larva was touched with a fine brush (as described in the previous paragraph) until it fell. For caterpillars weaving a thread, we measured its length with a ruler (precision ± 3 mm) after 5 s of stabilization. Thread length is supposed to be positively linked to larval escape ability (Vogelweith et al., 2014).

Once the three behavioral tests were carried out, larvae were returned to their rearing tube and associated thermal regime for 3 h before the immune measurements were taken. The ability of the larvae to kill parasitoid eggs was estimated by measuring hemocyte concentration and activity of the phenoloxidase (PO). Hemocytes are immune cells that freely circulate in hemolymph of insects and bind to parasitoid eggs. Hemocytes release the PO enzyme that catalyzes melanization reactions occurring around parasitoid eggs as part of the immune response (Lavine and Strand, 2002). Caterpillars were not challenged prior to these immune tests, because they naturally display high levels of basal immunity and do not significantly respond to an infection (Vogelweith et al., 2014). Larvae were chilled on ice for 30 min and then photographed using a stereomicroscope at 12.5x magnification (Stemi 508, Zeiss) to measure the distance between the most distant margins of the head capsule (precision: ± 0.1 µm) as a reliable estimator of larval body size (Delbac et al., 2010). For this experimental group, we measured larval body size rather than body mass since body size is known to correlate with some of the larval defenses in this species (Iltis et al., 2018) and because caterpillars cannot be accurately weighed while alive (Muller et al., 2015). One 2 µl sample of hemolymph was then collected from a prick in the dorsal part of the abdomen with a cold sterile glass capillary (Hirschmann Laborgeräte, Eberstadt). This sample was diluted in 20 µl of cold phosphate-buffered saline (PBS, 8.74 g NaCl, 1.78 g Na_2HPO_4, 1000 ml distilled water, pH 6.5). A volume of 10 µl of this solution was immediately withdrawn to estimate hemocyte concentration with a Neubauer improved hemocytometer under a phase contrast microscope at 400x magnification (Primo Star, Zeiss). The remaining 12 µl of diluted hemolymph were supplemented with 10 µl of PBS. These samples were frozen in liquid nitrogen and stored at −80 °C for the latter estimation of PO activity.

We distinguished between functional PO naturally activated in hemolymph (PO activity) and total PO including functional PO and proenzymes (total PO activity). These measurements were based on the spectrophotometry method described by Vogelweith et al. (2013). Hemolymph samples were allowed to thaw very slowly on ice and centrifuged (4000*g*, 15 min, 4 °C) before 5 µl of supernatant were transferred to microplate wells. These samples were supplemented with either 160 µl of diluted PBS solution (35 ml ultrapure water, 5 ml filtered PBS) for PO activity measurement, or with 160 µl of chymotrypsin solution (35 ml ultrapure water, 5 ml filtered PBS, 2.45 mg trypsin) for total PO activity measurement. Finally, 20 µl of L-Dopa solution (40 ml ultrapure water, 160 mg L-Dopamine) were deposited in each well as a colorimetric substrate. An enzymatic reaction proceeded for 40 min at 30 °C in a microplate reader (Versamax, Molecular Devices), during which the readings were taken every 15 s at 490 nm. Data were subsequently analyzed with the SOFT-Max Pro 4.0 software. We recorded maximum enzyme activity (V_{max}), corresponding to the slope of the absorbance curve during its linear phase. All immune assessments were reported to 1 µl of pure hemolymph.

2.6. Statistical analyses

Development time and pupal mass were normally distributed and displayed homogenous variances (homoscedasticity) between thermal regimes and sexes. Consequently, they were analyzed by means of two-way Analyses of Variance (ANOVAs) integrating thermal regime, sex and their interaction. Survival and sex ratio were expressed in proportions and therefore compared among thermal regimes with Generalized Linear Models (GLMs)-binomial error. To control for allometric effects on larval physiological and behavioral traits, we included either larval body mass (for energetic reserves) or larval body size (for defensive behaviors and immunity) as a covariate in the statistical models, alongside thermal regime as an explanatory variable. Most of the data were normally distributed (the reserves of the four energetic compounds, hemocyte concentration, total PO activity) or required a logarithm transformation to satisfy normality assumption (thread length and PO activity), and their variances were homogenous between thermal regimes. Accordingly, all these data were studied with analyses of covariance (ANCOVAs) testing for homogeneity of slopes and intercepts, as these models integrated the effects of the explanatory variable (thermal regime), the associated covariate (larval body mass or larval body size) and their interaction. As overdispersed count data, the number of lines caterpillars crossed and the number of twists were analyzed with GLM-negative binomial error. Normality and homoscedasticity were assessed with a Shapiro-Wilk and a Levene test, respectively. For count data, overdispersion (observed variance greater than the theoretical one predicted by the fitted model) was detected with a postregression likelihood ratio test (Cameron and Trivedi, 1990). All statistical analyses were carried out using R 3.5.2 software.

3. Results

3.1. Group 1: development time, pupal mass, survival and sex ratio

Neither development time (two-way ANOVA: $F_{1,832} = 0.04$, $P = 0.84$) nor pupal mass (two-way ANOVA: $F_{1,832} = 0.39$, $P = 0.53$) was impacted by the interaction between thermal regime and sex. Development time was modulated by thermal regime ($F_{1,832} = 639$, $P < 0.001$) and sex ($F_{1,832} = 26.5$, $P < 0.001$) in an additive way: individuals reared in future, warmer conditions needed less time to complete their larval development than those reared in current, cooler conditions, and females developed slower than males (Table 2). Pupal mass was affected by sex ($F_{1,832} = 1308$, $P < 0.001$) but not by thermal regime ($F_{1,832} = 0.67$, $P = 0.41$), as females being significantly heavier than males (Table 2). Survival was influenced by thermal regime (GLM-binomial error: $\chi^2_1 = 10.6$, $P < 0.001$): larvae reared in warmer conditions were more prone to survive until the adult stage than those held in cooler conditions (Table 2). Adult sex ratio did not differ between thermal regimes (GLM-binomial error: $\chi^2_1 = 0.02$, $P = 0.88$) (Table 2).

3.2. Group 2: energetic assessments

None of the four energetic compounds was affected by the interaction between thermal regime and larval body mass (Table 3). Among these compounds, only the body amount of lipids was influenced by thermal regime, while the amounts of proteins, soluble carbohydrates and glycogen remained the same across thermal regimes (Table 3, Fig. 1A–D). Caterpillars reared in warmer conditions stocked less lipid reserves at the end of their larval development relative to their counterparts reared in cooler conditions (Fig. 1B). Protein and lipid body amounts were both affected positively by larval body mass (Table 3, Fig. 1A, B): heaviest larvae accumulated more reserves than lightest ones (proteins: slope = 44.1; lipids: slope = 32.1).

Table 2
Mean values and 95% confidence intervals of development time (time between egg hatching and pupation), pupal mass, survival (from larval to adult stage), and sex ratio (proportion of males in the adult population) for the two thermal regimes. Different letters indicate significant differences for a given trait ($P < 0.05$).

		Current regime	Future regime
Development time (days)	Males	24.6 [24.0; 25.2]^a	16.9 [16.4. 17.3]^b
	Females	26.3 [25.5; 27.0]^c	18.4 [17.8; 19.0]^d
Pupal mass (mg)	Males	9.00 [8.9; 9.2]^a	9.00 [8.9; 9.1]^a
	Females	12.8 [12.5; 13.1]^b	12.7 [12.4; 12.9]^b
Survival (%)		43.5 [38.4; 48.6]^a	48.4 [43.9; 52.9]^b
Sex ratio (%)		59.3 [54.2; 64.4]	58.5 [54.0; 63.0]

Table 3
Effects of thermal regime, larval body mass and their interaction on the total body amounts of the four energetic compounds. All data were studied with analyses of covariance testing for homogeneity of slopes and intercepts. Bold values indicate significant effects ($P < 0.05$).

	Thermal regime		Larval body mass		Regime * Body mass	
	Test value	*P*	*Test value*	*P*	*Test value*	*P*
Proteins	$F_{1,50} = 1.72$	0.20	$\mathbf{F_{1,50} = 50.0}$	**< 0.001**	$F_{1,50} = 0.001$	0.98
Lipids	$\mathbf{F_{1,52} = 5.69}$	**0.02**	$\mathbf{F_{1,52} = 5.34}$	**0.02**	$F_{1,52} = 1.63$	0.21
Soluble carbohydrates	$F_{1,55} = 0.03$	0.86	$F_{1,55} = 1.50$	0.23	$F_{1,55} = 1.64$	0.20
Glycogen	$F_{1,55} = 2.36$	0.13	$F_{1,55} = 1.98$	0.16	$F_{1,55} = 0.52$	0.47

3.3. Group 3: behavioral and immune defenses

None of the behavioral or immune traits was impacted by the interaction between thermal regime and larval body size (Table 4). Among the behavioral traits examined, only the number of lines crossed by caterpillars during 'flee' tests was influenced by thermal regime: larvae reared and tested at warmer conditions crossed significantly more lines relative to individuals originating from cooler conditions (Table 4, Fig. 2A). Thermal regime did not affect 'twisting' (number of twists) and 'dropping' (length of the silk thread woven) behaviors (Table 4, Fig. 2B, C). From an immunological perspective, hemocyte concentration and PO activity were not impacted by thermal regime (Table 4, Fig. 3A, B). However, total PO activity was significantly modulated by thermal regime: larvae reared in warmer conditions displayed lower levels of total PO activity compared with those held in colder conditions (Table 4, Fig. 3C). None of the behavioral and immune traits was modulated by larval body size (Table 4).

4. Discussion

Within the framework of global warming, we here examined the responses of different fitness-related traits in caterpillars of the moth *L. botrana* to realistic daily fluctuating regimes reflecting current and future conditions in Eastern France. Many of the traits inspected were affected by our experimental imitation of climate change. Warming positively influenced caterpillars' development (leading to a 31% reduction in the time needed to complete all five larval instars), survival from first instar larva to adult stage (+19%) and larval ability to escape natural enemies through the expression of 'flee' behavior (+60%). Conversely, rising temperatures led to depletion of lipid reserves (−26%) and reduced total PO activity (−34%). Such a diversity of thermal responses among traits strengthens the importance of an integrative approach involving measurements on a wide array of traits to accurately forecast the consequences of global warming for an organism's performance, and the way it will interact with adjacent trophic levels.

Some traits related with population dynamics were positively

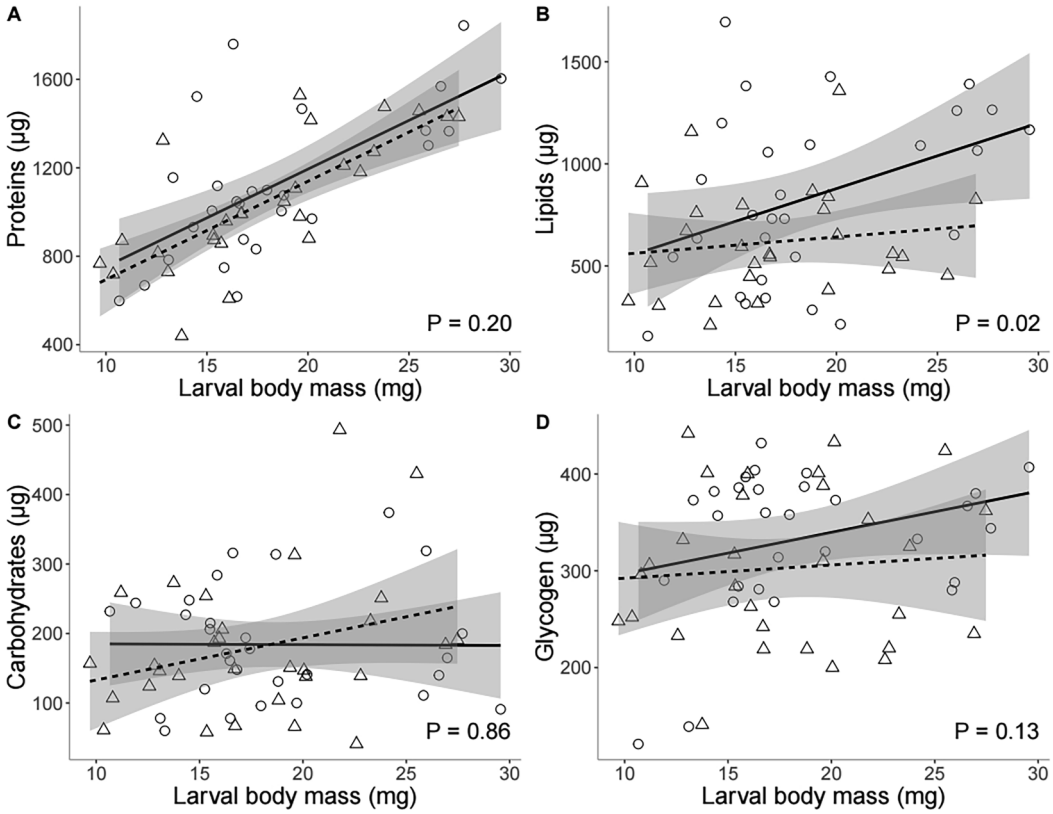


Fig. 1. Effect of thermal regime (circles and solid lines: current regime, triangles and dashed lines: future regime) in relation with larval fresh body mass on the total body amounts of proteins (A), lipids (B), soluble carbohydrates (C), and glycogen (D). Shaded area around each line corresponds to the 95% confidence interval for the predicted values of the linear regression. Reported *P* values refer to the simple effect of thermal regime on each energetic compound (testing homogeneity of intercepts between solid and dashed lines).

Table 4
Effects of thermal regime, larval body size (head capsule width) and their interaction on different defensive behaviors and immune traits involved in defenses of caterpillars against larval parasitoids. Bold values indicate significant effects ($P < 0.05$).

	Thermal regime		Larval body size		Regime * Body size	
	Test value	*P*	*Test value*	*P*	*Test value*	*P*
Defensive behaviors						
Number of lines[a]	χ^2_1 = **6.88**	**0.02**	χ^2_1 = 0.24	0.67	χ^2_1 = 0.50	0.54
Number of twists[a]	χ^2_1 = 0.64	0.35	χ^2_1 = 4.10^{-5}	0.99	χ^2_1 = 0.80	0.30
Thread length[b]	$F_{1,96}$ = 1.58	0.21	$F_{1,96}$ = 1.59	0.21	$F_{1,96}$ = 0.05	0.82
Immune traits						
Hemocyte concentration[b]	$F_{1,72}$ = 0.64	0.43	$F_{1,72}$ = 0.08	0.78	$F_{1,72}$ = 0.67	0.42
PO activity[b]	$F_{1,72}$ = 3.71	0.06	$F_{1,72}$ = 0.89	0.35	$F_{1,72}$ = 0.70	0.41
Total PO activity[b]	$\boldsymbol{F_{1,72}}$ **= 9.66**	**< 0.001**	$F_{1,72}$ = 1.28	0.26	$F_{1,72}$ = 0.39	0.53

[a] Generalized linear model-negative binomial error.
[b] Analysis of covariance.

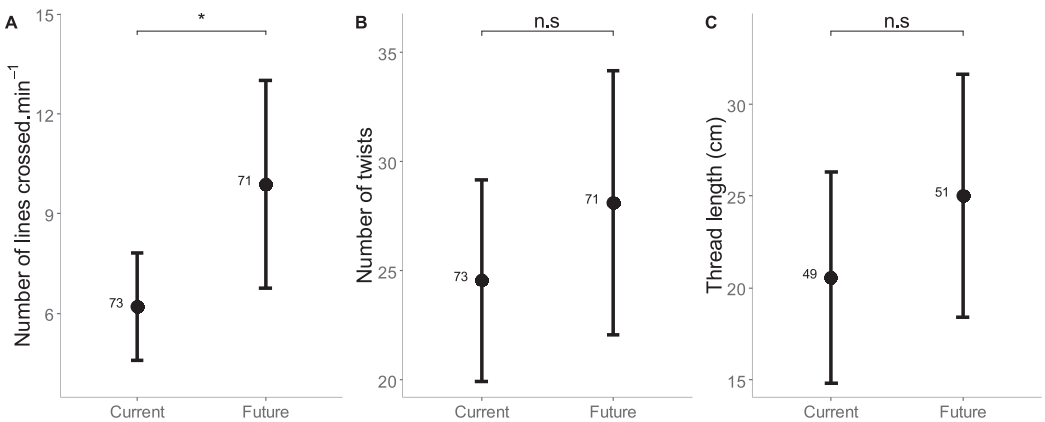


Fig. 2. Effect of thermal regime on the mean (± 95% c.i.) of the number of lines crossed by larvae during 'flee' tests (A), the number of twists over four touches (B), and the length of the silk thread spun (C). Asterisks highlight significant differences (*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, n.s. non-significant) and numbers refer to sample sizes.

affected by rising temperatures, presumably indicating an overall increase in caterpillars' performance under a simulated global warming scenario. Indeed, caterpillars experiencing higher, future temperatures developed faster and showed increased survival rates compared with individuals kept under thermal conditions similar to those currently recorded in Eastern France. These findings remain in accordance with previous studies showing that the thermal optimum for the development of *L. botrana* larvae – including the laboratory strain used in this study – ranges from 28 °C to 30 °C (Briere and Pracros, 1998; Iltis et al., 2018). Hence, the experimental warming applied here (mean temperature increasing from 20.5 to 25.8 °C) positively impacted development rates by bringing environmental temperatures closer to the thermal optimum of *L. botrana*. Similarly to a previous work conducted on the same species (Thiéry and Moreau, 2005), we found that faster

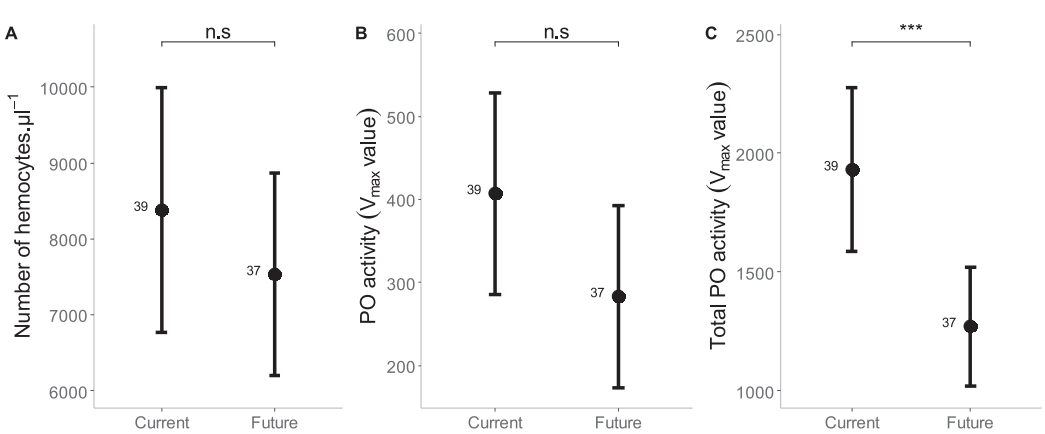


Fig. 3. Effect of thermal regime on the mean (± 95% c.i.) of hemocyte concentration (A), phenoloxidase activity (B), and total phenoloxidase activity (C). All these immune measurements were reported to 1 µl of pure hemolymph collected from fifth instar caterpillars. Asterisks highlight significant differences (*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, n.s. non-significant) and numbers refer to sample sizes.

development was accompanied with higher survival rates. One plausible explanation to these results could involve a phenomenon known as 'developmental resistance', whereby disease resistance usually increases throughout larval stages in some butterfly species (McNeil et al., 2010; Shikano et al., 2018). Hence, caterpillars may benefit from a faster development under warmer conditions by spending shorter in the early ontogenetic stages, which are the most susceptible to mortality driven by pathogenic infections (Valadez-Lira et al., 2012).

As a capital breeding species, we would have expected *L. botrana* individuals to incur costs arising from a shrunk larval stage (i.e. a reduced time allowed for feeding) in warmer conditions, especially regarding pupal mass. Contrary to these initial expectations, pupal mass did not differ between thermal regimes. These results confirm that *L. botrana* caterpillars could compensate for a shortened feeding period under hotter conditions through an increase in daily gain of body mass (i.e. growth rate) (Iltis et al., 2018). The underlying mechanisms to support a high growth rate in warm conditions could involve an increased food intake rate and/or an enhanced efficiency at converting food into body matter when exposed to hotter conditions (Bauerfeind and Fischer, 2013; Lee and Roh, 2010; Lemoine et al., 2014). Nonetheless, the 26% decrease in the body amounts of lipids observed in warmer conditions seems to indicate that larvae cannot compensate for the effects of warming on energetic budgets, with costs being specifically apparent on fat reserves (the three other energetic compounds remaining unaffected by temperature). Interestingly, previous work also recorded a reduced lipid storage efficiency for fast developing caterpillars in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), suggesting that high development rates induced by warming may be accompanied with a decline in lipid reserves (Lee and Roh, 2010). These findings indicate that the lipid energetic compartment could be particularly susceptible to the detrimental effects of a reduced feeding duration caused by an accelerated development under warmer conditions.

Aside from traits related with population dynamics, thermal conditions modulated the expression of several defensive traits involved in trophic interactions between *L. botrana* caterpillars and their natural enemies, especially the guild of parasitoids. Concerning behavioral traits, it is not possible to identify the mechanisms underlying the thermal response of 'flee' behavior at this stage. It may arise from long-term effects, whereby temperature met throughout larval development might have impacted the physiological state of caterpillars and their resource partitioning between competing defensive traits (Abram et al., 2017). It could also be attributable to short-term effects related with temperature prevailing during behavioral tests, which might have influenced caterpillars' metabolic rates and/or triggered thermosensory processes leading to behavioral adjustments following perception of heat conditions (Abram et al., 2017; Soto-Padilla et al., 2018). In terms of trophic dynamics, our findings indicate that increasing temperatures should enhance the ability of *L. botrana* caterpillars to escape from natural enemies through upregulation of 'flee' behavior. This does not, however, necessarily imply a lower larval susceptibility to parasitism, provided that the behaviors specifically expressed in case of an attempt of parasitoid oviposition ('twisting' and 'dropping') remained unaffected by thermal conditions.

Concerning immune traits, total PO activity was the only immune trait affected (negatively) by temperature, congruently with a previous work on *L. botrana* (Iltis et al., 2018) and our hypothesis that global warming could induce immunosuppressive effects in larvae of this species. Intriguingly, the decrease in total PO activity was not explained by a concomitant lowering of hemocyte concentration, which remained constant across thermal treatments in our study. Hemocyte populations are composed of different cell types (four types have been identified in larvae of the moth *Eupoecilia ambiguella*, a relative of *L. botrana*), each having a particular role in immunity (Lavine and Strand, 2002; Vogelweith et al., 2016). In this regard, we could postulate that thermal conditions might influence the relative abundances of hemocyte types in *L. botrana* larvae, tending to decrease the proportion of cells involved in synthesis of PO zymogens (e.g. oenocytoids). Our findings also indicate that, despite no effect on basal immunity (PO activity), warming could significantly reduce the ability of *L. botrana* caterpillars to respond to a parasitic infection because hotter rearing conditions decreased total PO activity. Indeed, the activation of PO cascade system is required to catalyze melanization of parasitoid eggs (González-Santoyo and Córdoba-Aguilar, 2012; Kanost and Gorman, 2008). However, it is worth noting that, in our immunological assays, immune reactions were allowed to proceed at standard temperature. Considering that, in lepidopteran species, the kinetics of PO enzyme will likely increase alongside larval body temperature up to a certain limit (Xue et al., 2006), it remains possible that larvae reared in warmer conditions invested less in the production of the active form of PO as an adaptive choice to keep the overall enzymatic activity constant across temperatures. Further insights into the functional consequences of this variation in larval immunity – for instance by measuring the *in vivo* ability of caterpillars to encapsulate and melanize foreign bodies at different temperatures – would be highly valuable to predict more thoroughly the impacts of global warming on caterpillars' survival in context of high parasitism pressure as recorded in vineyards.

5. Conclusion

In summary, our study brings new lines of evidence to suggest that multiple traits in a given species may differ in their sensitivity to global warming, underlying complex consequences for population dynamics and trophic interactions. Here, we found that, in terms of population dynamics, warming brought *L. botrana* closer to its thermal optimum for larval development. This should lead to a shorter generation time and therefore a higher future voltinism (number of generations per growing season) of *L. botrana* in Eastern France, as recently observed in meridional areas (Martín-Vertedor et al., 2010). To what extent these benefits might be mitigated by the reduction of lipid reserves observed under warmer conditions remains not well appreciated for now. A decline in lipids stock might, for instance, negatively impact the survival of the naturally diapausing generation of *L. botrana*, because fat reserves are crucial to survive extended non-feeding periods (Sinclair and Marshall, 2018). It may also persist into the adult stage and adversely impact adult dispersal ability and reproduction (Vande Velde and Van Dyck, 2013). Finally, we found that key traits involved in the trophic interactions between *L. botrana* caterpillars and their larval parasitoids were altered by warming. At this stage, predicting the consequences for future larval mortality induced by natural enemies in agroecosystems is somewhat challenging, provided that the direction of the effect of warming differed among defensive traits, and that parasitoids will also be impacted by rising temperatures, from both physiological and behavioral perspectives (Hance et al., 2007).

Several considerations should, however, be carefully examined to provide a more integrated picture of the impacts of warming for *L. botrana*, with respect to its evolutionary and ecological context. First, our study specifically investigated the plastic response occurring within one generation of *L. botrana* larvae exposed to an abrupt environmental warming. In natural conditions climate disturbance will more likely translate into a gradual shift in thermal conditions whose effects will spread across insect life stages and generations. For this reason, it is now widely acknowledged that the response of insect species to global warming will not solely be determined by intragenerational plasticity, but also by transgenerational plasticity (whereby temperatures faced by one generation will influence the expression of a phenotype in the subsequent generations) in concert with evolutionary processes (Donelson et al., 2018; Sgrò et al., 2016). It would therefore be worth investigating whether these different types of response might interact to shape the insect phenotype when experiencing gradual warming over several successive generations. Second, to what extent the mosaic of microclimatic conditions existing at the vine plant and grape bunch levels might create opportunities for larval behavioral

thermoregulation (through microsite selection) to alleviate the effects of warming must be taken into consideration. Apparently homogenous landscapes are actually composed of an important diversity of thermal conditions at much smaller, biologically relevant spatial scale matching the body size of the insect (Potter et al., 2013; Terblanche et al., 2015). Thus, variation in air temperature recorded in a given site at a macroclimatic scale may bear little relationship to the variation in the operative body temperature of the insect experiencing a set of contrasting microclimatic conditions. In vineyards, grape berry temperature displays an important variability both between grape bunches and within a single bunch, in relation with factors determining direct solar radiation (e.g. bunch exposure, shading provided by leaf canopy), bunch compactness and architecture (Haselgrove et al., 2000; Kiaeian Moosavi et al., 2018; Tello and Añez, 2017). Small scale variation in berry temperature due to sunlight exposure has been shown to deeply impact *L. botrana* performance, particularly in the early ontogenetic stages (egg hatching, larval settlement) (Kiaeian Moosavi et al., 2018). Incorporating this natural thermal complexity at microhabitat scales and the way it would be altered by a rapidly changing climatic context could therefore become a next step towards a more thorough understanding of the consequences of global warming for this insect pest.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge L. Delbac who managed the insect stock and E. Parfitt for English revision. We also want to thank L. Chevallier, P. Hübner, R. Kuzmin, M. Pêcheur, R. Quinaux and A. Rathery for their practical help in the experiments.

Funding

This work was supported by the Conseil Régional de Bourgogne Franche-Comté (PARI, FABER LOUAPRE-AGREE-BGS and VALEACLIM-BOIS), and the European Union (PO FEDER-FSE Bourgogne 2014/2020 programs).

References

Abram, P.K., Boivin, G., Moiroux, J., Brodeur, J., 2017. Behavioural effects of temperature on ectothermic animals: unifying thermal physiology and behavioural plasticity. Biol. Rev. 92, 1859–1876. https://doi.org/10.1111/brv.12312.

Adamo, S.A., Lovett, M.M.E., 2011. Some like it hot: the effects of climate change on reproduction, immune function and disease resistance in the cricket *Gryllus texensis*. J. Exp. Biol. 214, 1997–2004. https://doi.org/10.1242/jeb.056531.

Alfieri, L., Feyen, L., Dottori, F., Bianchi, A., 2015. Ensemble flood risk assessment in Europe under high end climate scenarios. Glob. Environ. Chang. 35, 199–212. https://doi.org/10.1016/J.GLOENVCHA.2015.09.004.

Angilletta, M.J., 2009. Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis. Oxford University Press, Oxford.

Barnay, O., Hommay, G., Gertz, C., Kienlen, J.C., Schubert, G., Marro, J.P., Pizzol, J., Chavigny, P., 2001. Survey of natural populations of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) in the vineyards of Alsace (France). J. Appl. Entomol. 125, 469–477. https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2001.00575.x.

Bauerfeind, S.S., Fischer, K., 2013. Increased temperature reduces herbivore host-plant quality. Glob. Chang. Biol. 19, 3272–3282. https://doi.org/10.1111/gcb.12297.

Bauerfeind, S.S., Fischer, K., 2014. Simulating climate change: temperature extremes but not means diminish performance in a widespread butterfly. Popul. Ecol. 56, 239–250. https://doi.org/10.1007/s10144-013-0409-y.

Beaumont, L.J., Hughes, L., Pitman, A.J., 2008. Why is the choice of future climate scenarios for species distribution modelling important? Ecol. Lett. 11, 1135–1146. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01231.x.

Bozinovic, F., Bastías, D.A., Boher, F., Clavijo-Baquet, S., Estay, S.A., Angilletta, M.J., 2011. The mean and variance of environmental temperature interact to determine physiological tolerance and fitness. Physiol. Biochem. Zool. 84, 543–552. https://doi.org/10.1086/662551.

Bozinovic, F., Medina, N.R., Alruiz, J.M., Cavieres, G., Sabat, P., 2016. Thermal tolerance and survival responses to scenarios of experimental climatic change: changing thermal variability reduces the heat and cold tolerance in a fly. J. Comp. Physiol. B 186, 581–587. https://doi.org/10.1007/s00360-016-0980-6.

Briere, J.-F., Pracros, P., 1998. Comparison of temperature-dependent growth models with the development of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Environ. Entomol. 27, 94–101. https://doi.org/10.1093/ee/27.1.94.

Cameron, A.C., Trivedi, P.K., 1990. Regression-based tests for overdispersion in the Poisson model. J. Econ. 46, 347–364. https://doi.org/10.1016/0304-4076(90)90014-K.

Clarke, A., 2003. Costs and consequences of evolutionary temperature adaptation. Trends Ecol. Evol. 18, 573–581. https://doi.org/10.1016/J.TREE.2003.08.007.

Colinet, H., Sinclair, B.J., Vernon, P., Renault, D., 2015. Insects in fluctuating thermal environments. Annu. Rev. Entomol. 60, 123–140. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021017.

Delbac, L., Lecharpentier, P., Thiery, D., 2010. Larval instars determination for the European grapevine moth (Lepidoptera: Tortricidae) based on the frequency distribution of head-capsule widths. Crop Prot. 29, 623–630. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.01.009.

Deutsch, C.A., Tewksbury, J.J., Huey, R.B., Sheldon, K.S., Ghalambor, C.K., Haak, D.C., Martin, P.R., 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 105, 6668–6672. https://doi.org/10.1073/pnas.0709472105.

Donelson, J.M., Salinas, S., Munday, P.L., Shama, L.N.S., 2018. Transgenerational plasticity and climate change experiments: where do we go from here? Glob. Chang. Biol. 24, 13–34. https://doi.org/10.1111/gcb.13903.

Dosio, A., 2016. Projections of climate change indices of temperature and precipitation from an ensemble of bias-adjusted high-resolution EURO-CORDEX regional climate models. J. Geophys. Res. Atmos. 121, 5488–5511. https://doi.org/10.1002/2015JD024411.

Estay, S.A., Lima, M., Bozinovic, F., 2014. The role of temperature variability on insect performance and population dynamics in a warming world. Oikos 123, 131–140. https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2013.00607.x.

Fischer, K., Kölzow, N., Höltje, H., Karl, I., 2011. Assay conditions in laboratory experiments: is the use of constant rather than fluctuating temperatures justified when investigating temperature-induced plasticity? Oecologia 166, 23–33. https://doi.org/10.1007/s00442-011-1917-0.

Fischer, K., Klockmann, M., Reim, E., 2014. Strong negative effects of simulated heat waves in a tropical butterfly. J. Exp. Biol. 217, 2892–2898. https://doi.org/10.1242/jeb.106245.

Foray, V., Pelisson, P.-F., Bel-Venner, M.-C., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., Giron, D., Rey, B., 2012. A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel's method (1985) revisited. Physiol. Entomol. 37, 295–302. https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2012.00831.x.

Foray, V., Desouhant, E., Gibert, P., 2014. The impact of thermal fluctuations on reaction norms in specialist and generalist parasitic wasps. Funct. Ecol. 28, 411–423. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12171.

González-Santoyo, I., Córdoba-Aguilar, A., 2012. Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. Entomol. Exp. Appl. 142, 1–16. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2011.01187.x.

Hance, T., van Baaren, J., Vernon, P., Boivin, G., 2007. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. Annu. Rev. Entomol. 52, 107–126. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091333.

Haselgrove, L., Botting, D., Heesjwick, R., Høj, P.B., Dry, P.R., Ford, C., Land, P.G.I., 2000. Canopy microclimate and berry composition: the effect of bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L cv. Shiraz grape berries. Aust. J. Grape Wine Res. 6, 141–149. https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00173.x.

Iltis, C., Martel, G., Thiéry, D., Moreau, J., Louâpre, P., 2018. When warmer means weaker: high temperatures reduce behavioural and immune defences of the larvae of a major grapevine pest. J. Pest Sci. 91, 1315–1326. https://doi.org/10.1007/s10340-018-0992-y.

Jacob, D., Petersen, J., Eggert, B., Alias, A., Christensen, O.B., Bouwer, L.M., Braun, A., Colette, A., Déqué, M., Georgievski, G., Georgopoulou, E., Gobiet, A., Menut, L., Nikulin, G., Haensler, A., Hempelmann, N., Jones, C., Keuler, K., Kovats, S., Kröner, N., Kotlarski, S., Kriegsmann, A., Martin, E., van Meijgaard, E., Moseley, C., Pfeifer, S., Preuschmann, S., Radermacher, C., Radtke, K., Rechid, D., Rounsevell, M., Samuelsson, P., Somot, S., Soussana, J.-F., Teichmann, C., Valentini, R., Vautard, R., Weber, B., Yiou, P., 2014. EURO-CORDEX: new high-resolution climate change projections for European impact research. Reg. Environ. Chang. 14, 563–578. https://doi.org/10.1007/s10113-013-0499-2.

Jeffs, C.T., Lewis, O.T., 2013. Effects of climate warming on host-parasitoid interactions. Ecol. Entomol. 38, 209–218. https://doi.org/10.1111/een.12026.

Kanost, M.R., Gorman, M.J., 2008. Phenoloxidases in insect immunity. In: Beckage, N.E. (Ed.), Insect Immunology. Academic Press, New York, pp. 69–96.

Karl, I., Stoks, R., De Block, M., Janowitz, S.A., Fischer, K., 2011. Temperature extremes and butterfly fitness: conflicting evidence from life history and immune function. Glob. Chang. Biol. 17, 676–687. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02277.x.

Kiaeian Moosavi, F., Cargnus, E., Pavan, F., Zandigiacomo, P., 2018. Effects of grapevine bunch exposure to sunlight on berry surface temperature and *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) egg laying, hatching and larval settlement. Agric. For. Entomol. 20, 420–432. https://doi.org/10.1111/afe.12274.

Kingsolver, J.G., Higgins, J.K., Augustine, K.E., 2015. Fluctuating temperatures and ectotherm growth: distinguishing non-linear and time-dependent effects. J. Exp. Biol. 218, 2218–2225. https://doi.org/10.1242/jeb.120733.

Klockmann, M., Karajoli, F., Kuczyk, J., Reimer, S., Fischer, K., 2016. Fitness implications of simulated climate change in three species of copper butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). Biol. J. Linn. Soc. 120, 125–143. https://doi.org/10.1111/bij.12846.

Kotlarski, S., Keuler, K., Christensen, O.B., Colette, A., Déqué, M., Gobiet, A., Goergen, K., Jacob, D., Lüthi, D., van Meijgaard, E., Nikulin, G., Schär, C., Teichmann, C., Vautard,

R., Warrach-Sagi, K., Wulfmeyer, V., 2014. Regional climate modeling on European scales: a joint standard evaluation of the EURO-CORDEX RCM ensemble. Geosci. Model Dev. 7, 1297–1333. https://doi.org/10.5194/gmd-7-1297-2014.

Laughton, A.M., O'Connor, C.O., Knell, R.J., 2017. Responses to a warming world: integrating life history, immune investment, and pathogen resistance in a model insect species. Ecol. Evol. 7, 9699–9710. https://doi.org/10.1002/ece3.3506.

Lavine, M.D., Strand, M.R., 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Biochem. Mol. Biol. 32, 1295–1309. https://doi.org/10.1016/S0965-1748(02)00092-9.

Lee, K.P., Roh, C., 2010. Temperature-by-nutrient interactions affecting growth rate in an insect ectotherm. Entomol. Exp. Appl. 136, 151–163. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2010.01018.x.

Lemoine, N.P., Burkepile, D.E., Parker, J.D., 2014. Variable effects of temperature on insect herbivory. PeerJ 2, e376. https://doi.org/10.7717/peerj.376.

Martin, T.L., Huey, R.B., 2008. Why 'suboptimal' is optimal: Jensen's inequality and ectotherm thermal preferences. Am. Nat. 171, E102–E118. https://doi.org/10.1086/527502.

Martín-Vertedor, D., Ferrero-García, J.J., Torres-Vila, L.M., 2010. Global warming affects phenology and voltinism of *Lobesia botrana* in Spain. Agric. For. Entomol. 12, 169–176. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2009.00465.x.

McNeil, J., Cox-Foster, D., Slavicek, J., Hoover, K., 2010. Contributions of immune responses to developmental resistance in *Lymantria dispar* challenged with baculovirus. J. Insect Physiol. 56, 1167–1177. https://doi.org/10.1016/J.JINSPHYS.2010.03.020.

Muller, K., Vogelweith, F., Thiéry, D., Moret, Y., Moreau, J., 2015. Immune benefits from alternative host plants could maintain polyphagy in a phytopagous insect. Oecologia 177, 467–475. https://doi.org/10.1007/s00442-014-3097-1.

Paaijmans, K.P., Heinig, R.L., Seliga, R.A., Blanford, J.I., Blanford, S., Murdock, C.C., Thomas, M.B., 2013. Temperature variation makes ectotherms more sensitive to climate change. Glob. Chang. Biol. 19, 2373–2380. https://doi.org/10.1111/gcb.12240.

Potter, K.A., Woods, A.H., Pincebourde, S., 2013. Microclimatic challenges in global change biology. Glob. Chang. Biol. 19, 2932–2939. https://doi.org/10.1111/gcb.12257.

Rebaudo, F., Rabhi, V.-B., 2018. Modeling temperature-dependent development rate and phenology in insects: review of major developments, challenges, and future directions. Entomol. Exp. Appl. 166, 607–617. https://doi.org/10.1111/eea.12693.

Seehausen, M.L., Régnière, J., Martel, V., Smith, S.M., 2017. Developmental and reproductive responses of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) parasitoid *Tranosema rostrale* (Hymenoptera: Ichneumonidae) to temperature. J. Insect Physiol. 98, 38–46. https://doi.org/10.1016/J.JINSPHYS.2016.11.008.

Sgrò, C.M., Terblanche, J.S., Hoffmann, A.A., 2016. What can plasticity contribute to insect responses to climate change? Annu. Rev. Entomol. 61, 433–451. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023859.

Shikano, I., McCarthy, E., Hayes-Plazolles, N., Slavicek, J.M., Hoover, K., 2018. Jasmonic acid-induced plant defenses delay caterpillar developmental resistance to a baculovirus: slow-growth, high-mortality hypothesis in plant–insect–pathogen interactions. J. Invertebr. Pathol. 158, 16–23. https://doi.org/10.1016/J.JIP.2018.09.001.

Sinclair, B.J., Marshall, K.E., 2018. The many roles of fats in overwintering insects. J. Exp. Biol. 221, jeb161836. https://doi.org/10.1242/jeb.161836.

Sinclair, B.J., Marshall, K.E., Sewell, M.A., Levesque, D.L., Willett, C.S., Slotsbo, S., Dong, Y., Harley, C.D.G., Marshall, D.J., Helmuth, B.S., Huey, R.B., 2016. Can we predict ectotherm responses to climate change using thermal performance curves and body temperatures? Ecol. Lett. 19, 1372–1385. https://doi.org/10.1111/ele.12686.

Soto-Padilla, A., Ruijsink, R., Sibon, O.C.M., van Rijn, H., Billeter, J.-C., 2018. Thermosensory perception regulates speed of movement in response to temperature changes in *Drosophila melanogaster*. J. Exp. Biol. 221, jeb174151. https://doi.org/10.1242/jeb.174151.

Taylor, K.E., Stouffer, R.J., Meehl, G.A., 2012. An overview of CMIP5 and the experiment design. Bull. Am. Meteorol. Soc. 93, 485–498. https://doi.org/10.1175/BAMS-D-11-00094.1.

Tello, J., Añez, J.I., 2017. What do we know about grapevine bunch compactness? A state-of-the-art review. Aust. J. Grape Wine Res. 24, 6–23. https://doi.org/10.1111/ajgw.12310.

Terblanche, J.S., Nyamukondiwa, C., Kleynhans, E., 2010. Thermal variability alters climatic stress resistance and plastic responses in a globally invasive pest, the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). Entomol. Exp. Appl. 137, 304–315. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2010.01067.x.

Terblanche, J.S., Karsten, M., Mitchell, K.A., Barton, M.G., Gibert, P., 2015. Physiological variation of insects in agricultural landscapes: potential impacts of climate change. In: Bjorkman, C., Niemela, P. (Eds.), Climate Change and Insect Pests. CABI, Wallingford, pp. 92–118.

Thiéry, D., Monceau, K., Moreau, J., 2014. Larval intraspecific competition for food in the European grapevine moth *Lobesia botrana*. Bull. Entomol. Res. 104, 517–524. https://doi.org/10.1017/S0007485314000273.

Thiéry, D., Louâpre, P., Muneret, L., Rusch, A., Sentenac, G., Vogelweith, F., Iltis, C., Moreau, J., 2018. Biological protection against grape berry moths. A review. Agron. Sustain. Dev. 38, 15. https://doi.org/10.1007/s13593-018-0493-7.

Thiéry, D., Moreau, J., 2005. Relative performance of European grapevine moth (*Lobesia botrana*) on grapes and other hosts. Oecologia 143, 548–557. https://doi.org/10.1007/s00442-005-0022-7.

Valadez-Lira, J.A., Alcocer-Gonzalez, J.M., Damas, G., Nuñez-Mejía, G., Oppert, B., Rodriguez-Padilla, C., Tamez-Guerra, P., 2012. Comparative evaluation of phenoloxidase activity in different larval stages of four lepidopteran pests after exposure to *Bacillus thuringiensis*. J. Insect Sci. 12, 1–11. https://doi.org/10.1673/031.012.8001.

Van der Putten, W.H., Macel, M., Visser, M.E., 2010. Predicting species distribution and abundance responses to climate change: why it is essential to include biotic interactions across trophic levels. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 365, 2025–2034. https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0037.

Vande Velde, L., Van Dyck, H., 2013. Lipid economy, flight activity and reproductive behaviour in the speckled wood butterfly: on the energetic cost of territory holding. Oikos 122, 555–562. https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20747.x.

Vasseur, D.A., DeLong, J.P., Gilbert, B., Greig, H.S., Harley, C.D.G., McCann, K.S., Savage, V., Tunney, T.D., O'Connor, M.I., 2014. Increased temperature variation poses a greater risk to species than climate warming. Proc. Biol. Sci. 281, 20132612. https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2612.

Vogelweith, F., Thiery, D., Moret, Y., Moreau, J., 2013. Immunocompetence increases with larval body size in a phytophagous moth. Physiol. Entomol. 38, 219–225. https://doi.org/10.1111/phen.12025.

Vogelweith, F., Thiéry, D., Moret, Y., Colin, E., Motreuil, S., Moreau, J., 2014. Defense strategies used by two sympatric vineyard moth pests. J. Insect Physiol. 64, 54–61. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.03.009.

Vogelweith, F., Moret, Y., Monceau, K., Thiéry, D., Moreau, J., 2016. The relative abundance of hemocyte types in a polyphagous moth larva depends on diet. J. Insect Physiol. 88, 33–39. https://doi.org/10.1016/J.JINSPHYS.2016.02.010.

Xue, C.-B., Luo, W.-C., Chen, Q.-X., Wang, Q., Ke, L.-N., 2006. Enzymatic properties of phenoloxidase from *Pieris rapae* (Lepidoptera) larvae. Insect Sci. 13, 251–256. https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2006.00091.x.

Zeh, J.A., Bonilla, M.M., Su, E.J., Padua, M.V., Anderson, R.V., Zeh, D.W., 2015. Constant diurnal temperature regime alters the impact of simulated climate warming on a tropical pseudoscorpion. Sci. Rep. 4, 3706. https://doi.org/10.1038/srep03706.

Ziter, C., Robinson, E.A., Newman, J.A., 2012. Climate change and voltinism in Californian insect pest species: sensitivity to location, scenario and climate model choice. Glob. Chang. Biol. 18, 2771–2780. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02748.x.

MANUSCRIT 3

Warming adversely affects the reproductive performance of both sexes in the major grapevine pest Lobesia botrana

Corentin Iltis[a], Jérôme Moreau[a], Karolina Pecharová[a], Denis Thiéry[b], and Philippe Louâpre[a]

[a] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[b] *UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.*

En révisions majeures pour *Journal of Pest Science*

Warming adversely affects the reproductive performance of both sexes in the major grapevine pest *Lobesia botrana*

Corentin Iltis*[1], Jérôme Moreau[1], Karolina Pecharová[1], Denis Thiéry[2], and Philippe Louâpre[1]

[1] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[2] *UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.*

* Corresponding author. E-mail: corentin.iltis@u-bourgogne.fr. ORCID: 0000-0002-1379-8029

Acknowledgements

The authors are grateful to Lionel Delbac who managed the insect stock, Benjamin Bois and Sébastien Zito who designed the thermal regimes, and Samuel Ribeiro for his practical support all along the experiments.

Abstract

The European grapevine moth (*Lobesia botrana*) is an important grape pest in the Palearctic region. Hence, to forecast how this noxious species might respond to climate change has emerged as one major challenge in recent viticulture research. Predictions about *L. botrana* population dynamics under global warming scenario are usually derived from physiologically-based demographic models (PBDMs). Despite their ecological realism, PBDMs suffer from shortcomings: (i) they are based on physiological equations derived from constant, unrealistic thermal regimes, thereby neglecting the importance of thermal fluctuations in determining insect performance; (ii) they exclude the effects of temperature on male's reproductive traits, which importantly mediates population dynamics in this species. Through an experimental approach, we investigated the effects of realistic fluctuating regimes, based on *in situ* meteorological data and outputs of climate models, on *L. botrana* reproduction (reproductive performance of both sexes). Our imitation of climate change affected moth vital rates: individuals exposed to warmer conditions developed faster while incurring reduced adult lifespan. Pupal mass and energetic budgets of moths were unaffected by temperature. Each sex endured specific reproductive costs associated with warming: warm-originating females incurred reduced mating success, warm-originating males bore decreased fertility (lower number of eupyrene sperms within spermatophore). Our results indicate that global warming should impact the voltinism and the reproductive success of *L. botrana* in positive and adverse ways, respectively. In terms of pest management, our findings might contribute to increase the ecological realism of PBDMs and improve the reliability of their predictions about the population dynamics of *L. botrana*.

Keywords

Fluctuating thermal regimes, global warming, grapevine pest, *Lobesia botrana*, population dynamics, sperm quality

Key message

. Using realistic fluctuating thermal regimes, we explored the consequences of global warming for the development and the reproduction of the major grapevine pest *Lobesia botrana*.

. Individuals of both sexes developed faster but lived shorter under warmer conditions. The reproductive performance of both sexes was negatively influenced by warming: warm-originating females experienced reduced mating success, warm-originating males endured decreased sperm fertility.

. These findings suggest that warming should positively impact *L. botrana* voltinism whilst negatively affecting its reproductive success.

Author contribution statement

All authors conceived the experiments. CI and KP run out the experiments. CI and PL analysed the data. CI, PL, JM and DT led the writing of the manuscript. All authors critically revised the intellectual content of the draft and gave their approbation for the final version to be published.

Introduction

Grape is a major crop worldwide in terms of total cultivated area (7.52 million ha distributed over virtually all continents), production (75,800,000 tons harvested globally in 2016), and economic benefits (grape industry displays the highest levels of economic expansion among agricultural commodities over the past 30 years) (OIV 2016; Daane et al. 2018). Winemaking sector is currently facing new threats and challenges, first and foremost the changes in thermal conditions attributable to anthropogenic climate disturbance (Fraga et al. 2012). In this context, rising temperatures are predicted to impact grapevine cultivation by modulating the risks of pest outbreaks and emergence of insect-borne diseases (Fraga et al. 2012; Reineke and Thiéry 2016). Indeed, grapevine is targeted by numerous insect pests exerting detrimental effects on grape production through feeding on plant tissues and/or by acting as vectors of plant diseases (Reineke and Thiéry 2016; Thiéry et al. 2018). As ectothermic animals, phytophagous insects are very sensitive to environmental temperature, which regulates their physiology, individual performance and population dynamics in space (distribution range) and time (life cycle duration, phenology) (Bale et al. 2002; Reineke and Thiéry 2016). In view of the many threats global warming poses to the long-term viability of vineyards, to predict how the projected increase in global mean temperature might affect the population dynamics of major grapevine pests and anticipate the possible repercussions on grapevine cultivation has emerged as one major challenge in recent viticulture research (Reineke and Thiéry 2016; Castex et al. 2018; Thiéry et al. 2018).

The European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) is recognised as one of the most harmful phytophagous pests for winemaking activities in Palearctic region (Thiéry et al. 2018). Quantitative and qualitative damage are triggered by caterpillars while attacking vine fructiferous organs (floral buds, ripening and mature berries). Larval feeding on berries induces severe yield losses because of direct consumption of agricultural production. Moreover, it promotes the intrusion of several fungal agents responsible for bunch rot development (*Botrytis cinerea, Aspergilus carbonarius*, *A. niger*) and increases the plant susceptibility to other grape berry boring pests like fruit flies (Cozzi et al. 2006; Reineke and Thiéry 2016). Although still never quantified, the economic impacts of *L. botrana* have been rated as ‘high’, provided that one caterpillar might infest between 2 and 10 berries throughout its

development, and that density might reach up to 20-30 larvae per bunch in heavily infested vineyards (Delbac and Thiéry 2016). High levels of economic injury due to *L. botrana* activity are also suggested by considerable yield losses like those recorded in Greece, amounting from 13.3% to 27% of the total grape production over a 4-year period (Moschos 2006).

Predictions about *L. botrana* population dynamics under global warming scenario are usually derived from physiologically-based demographic models (PBDMs) (Gutierrez et al. 2012, 2017). These mechanistic models rely on equations describing the effects of temperature on physiological processes enabling to infer population growth, above all developmental rates, survival and *per capita* fecundity (total number of eggs laid by one female) (Gutierrez et al. 2012, 2017; Gilioli et al. 2016). PBDMs can be coupled with *in situ* weather data and climate change scenarios to project the current and future geographical distribution of *L. botrana* across a lattice of spatial cells. This way, PBDMs allow to anticipate the local dynamics of *L. botrana* populations in terms of abundance and phenology (Gutierrez et al. 2012, 2017). These models predict that, concurrently with grape yield, the abundance of *L. botrana* populations should increase northward and in higher elevations of the Euro-Mediterranean region, while the opposite trend should be observed for southern areas where summer conditions will adversely impact the moth vital functions and reduce grape yields (Gutierrez et al. 2017).

Notwithstanding their ecological realism (i.e. the possibility to include the bottom-up effects of grapevine phenological stage on *L. botrana* physiology), PBDMs suffer from shortcomings that could limit their ability to accurately forecast the future of *L. botrana* populations in a rapidly changing climatic context. First, the equations constituting PBDMs are based on data obtained under constant temperatures (Gutierrez et al. 2012). For that reason, the predictions given by PBDMs might differ from biological conclusions drawn by comparing the performance of *L. botrana* under daily fluctuating thermal regimes, which reflect more realistically the day/night variations of temperatures experienced by insects in their natural environment (Colinet et al. 2015). This is especially true considering the widely observed effects of thermal fluctuations on ectotherm physiology (Colinet et al. 2015). Second, by expressing fecundity as a function of temperature and female's age, PBDMs implicitly rule out the importance of male's reproductive performance on female's egg production.

Nonetheless, in *L. botrana* as in many other lepidopteran species, the spermatophore delivered during copulation does not only include sperm but also accessory gland secretions containing nutrients absorbed by female to boost her egg production (South and Lewis 2011). Since *L. botrana* is a capital breeding species (i.e. with a non-feeding adult stage), the quality of the nutritive ejaculate delivered by male during copulation importantly mediates the resources allocated to egg production and the reproductive output of the pair (number of eggs laid, hatching success) (Muller et al. 2015, 2016a). Provided that ejaculate quality is usually temperature-dependent in arthropod species (Zeh et al. 2012; Vasudeva et al. 2014), to address the effects of warming on male's ejaculatory traits is required for a better understanding of the consequences of climate change for *L. botrana* reproduction and population dynamics.

In view of the concerns raised above, we performed laboratory experiments to investigate the consequences of warming conditions for the performance and the reproduction of both *L. botrana* females and males. From their first larval instar to the adult stage, individuals were exposed to daily fluctuating thermal regimes designed to reflect current or future thermal conditions in our study area (Eastern France). We recorded several surrogates for overall performance in both sexes (larval and pupal development time, pupal mass, amounts of energetic compounds available upon moth emergence, adult lifespan). Additionally, we assessed the effects of temperature on the reproductive traits of females (mating success, number of eggs laid, hatching success, oviposition dynamics) and males (mating success, spermatophore volume, sperm quality). In accordance with a previous study conducted on the same species, we expected shorter larval development time under warmer conditions (Iltis et al. 2018), which implies a reduced time allowed for feeding in this capital breeding species. This reduction in the duration of the feeding stage should in turn negatively impact pupal mass, energetic states, adult lifespan and the reproductive performance of both sexual partners, which crucially hinges on resources acquired through the alimentation of larval stages (Moreau et al. 2006; Muller et al. 2015).

Materials and methods

Thermal regimes

This study involved two daily fluctuating thermal regimes designed to reflect realistic current and future thermal conditions in Burgundy, Eastern France (Longvic-Dijon weather station, 47,27°N; 5,09°E; altitude = 219 m) (www.meteofrance.com). Both these two regimes aimed at emulating an average day during summer period (15th July – 15th August), because *L. botrana* exhibits high levels of activity (i.e. one peak of adult emergence) over this date range (Barnay et al. 2001; Martín-Vertedor et al. 2010). The regime used to simulate summer conditions currently found in Burgundy, called the current regime, was built based on a 20-year recording of *in situ* hourly temperatures over a recent period (1995-2014). The current regime was composed of six segments of temperatures, each lasting 4h and calculated as the mean segment over the 30 days (15th July – 15th August) and the 20 years studied.

Alongside the current regime, we designed the future regime focused on summer thermal conditions likely to occur in Burgundian vineyards by the end of the century (2081-2100 period). The future regime was generated according to the projections provided by six different climate simulations (spatial resolution: 12.5 km), each involving a combination of one General Circulation Model and one Regional Climate Model nested within (Taylor et al. 2012; Jacob et al. 2014). All these simulations were run with the RCP 8.5 scenario, predicting the highest positive radiative forcing (i.e. high absorbance of solar and infrared radiation) as a consequence of massive and growing future emissions of greenhouse gas (www.drias-climat.fr). Just like the current regime, the future regime included six segments of temperatures, each lasting 4h and corresponding to the mean segment over the six simulations performed. All meteorological data used to design the thermal regimes are freely available on the Drias portal (www.drias-climat.fr). The comparison of current and future regimes indicates that global warming is likely to increase both the mean temperature (+ 5.3°C) and the daily thermal range (+ 0.6°C) in our focal area (Table 1).

Table 1 Thermal conditions (°C) for the two daily fluctuating thermal regimes involved in this study, each divided into 6 segments of 4h. Daily thermal range corresponds to the difference between daily maximum and minimum temperature

	Current Regime	**Future Regime**
0h – 4h	16.4	21.4
4h – 8h	17.8	22.9
8h – 12h	22.3	27.8
12h – 16h	24.9	30.5
16h – 20h	22.9	28.3
20h – 0h	19.0	24.2
Mean temperature	20.5	25.8
Daily thermal range	8.5	9.1

Moth rearing and larvae collection

An inbred strain of *L. botrana* provided the individuals used in this study (French National Institute for Agricultural Research, Villenave-d'Ornon, France). Insect stock arose from large numbers of caged adults (several thousand each week), to which wild individuals sampled in nearby vineyards (cultivar Semillon) were periodically added to maintain levels of genetic diversity. This stock colony was kept without diapause under standard laboratory conditions (20 ± 0.5°C, 60 ± 5% relative humidity, photoperiod of L17: D6 with 1h of dusk). During photophase, luminosity varied between 600 lx (daytime) and 100 lx (dusk). Bands of waxed paper (5 x 10 cm) were hung inside rearing cages for eggs laying. Once these oviposition supports received a sufficient number of eggs (after 2-3 days), they were renewed and placed in plastic boxes covered with a daily humidified piece of paper towel to protect eggs from desiccation until hatching.

Adults used in the experiments were obtained by initially collecting 2043 newly hatched larvae (age < 24h) from the rearing stock with a fine paintbrush. To avoid any experimental bias attributable to larval competition and subsequent food deprivation (Thiéry et al. 2014), larvae were individually reared in Eppendorf tube filled with 1.5 ml of artificial culture medium (composition for 1000 ml: 1000 ml water, 15 g agar, 86.6 g

maize flour, 41.3 g wheat germ, 45.5 g beer yeast, 6 g ascorbic acid, 3.4 g mineral salt, 0.32 g Scala, 2.7 g benzoic acid, 2.8 g Nipagin and 5 ml 95% ethanol). Tube lids were pierced for air circulation and covered with a piece of fine mesh fabric to prevent larvae from escaping. Freshly hatched larvae were then randomly allocated to one thermal regime (current regime or future regime) programmed with climate chambers (ST 2/2 BASIC, Pol-Eko Aparatura, Wodzisław Śląski, Poland). Abiotic conditions inside these incubators were controlled (temperature ± 0.1°C, 50 ± 10% relative humidity, L18: D6, 650 lx). According to a previous study, daily monitoring of larval development and pupation started only 2 weeks (if caterpillars were reared in the future regime) or 4 weeks (if they were reared in the current regime) after initial collection to minimise disturbance (Iltis et al. 2018).

Immediately following pupation, chrysalises were delicately extracted from their cocoon and weighted to the nearest 0.1 mg with a balance (Pioneer PA214C, OHAUS, Greifensee, Switzerland). They were then individually transferred into glass tubes (70 x 9 mm diameter) closed with cotton and were returned to their rearing thermal regime to end their development. Tubes were inspected each day to monitor adult emergence. Freshly emerged moths were sexed and supplied with water *ad libitum* through daily soaked cotton plugs. At this step, we recorded (i) the time elapsed between egg hatching and pupation (larval development time), (ii) the time elapsed between pupation and imaginal emergence (pupal development time) and (iii) pupal mass for both sexes.

Freshly emerged adults were then randomly distributed among three groups all along the experiments, because the array of measurements included in the study could not have been performed on the same individuals. In Group 1, adults were frozen to subsequently quantify their energetic budgets. In Group 2, adults were held under their rearing thermal regime until death to record adult lifespan. In Group 3, adults were mated with standard individuals (originating from the laboratory insect stock) to assess the reproductive performance of each sex separately.

Group 1: Energetic budgets upon emergence

Energetic assessments were run on 75 females (*n* = 37 for current regime, *n* = 38 for future regime) and 80 males (*n* = 36 for current regime, *n* = 44 for future regime). Within the 12h following their emergence, moths were individually placed in Eppendorf tubes and immediately frozen in liquid nitrogen. They were kept at – 80°C for later quantification of their energetic budgets. Wings were cut before moths were crushed in lysis buffer, as they are covered with scales which might disturb the biochemical assays based on absorbance measurements. Four metabolites involved in energy production in insects were quantified through spectrophotometry methods: proteins, lipids, glycogen and soluble carbohydrates. The total amounts of soluble proteins available was quantified using a DC Protein Assay kit involving Bradford reagent (Bio-Rad, Hercules, USA). The assessments of other energetic metabolites (lipids, glycogen, soluble carbohydrates) were performed with the method described by Foray et al. (2012). The repeatability of the measurements was assessed by calculating the coefficient of variation over two replicates for protein and lipid body amounts, and excluding the individuals for which this coefficient exceeded 30% (see Iltis et al. 2017). Repeatability was relatively high, as indicated by the low percentages of individuals removed from the protein dataset (3.2%) and the lipid dataset (0.6%). More specifically, this selection procedure led to the exclusion of 3 females (*n* = 2 for current regime, *n* = 1 for future regime) and 2 males (*n* = 2 for future regime) from the protein dataset, and 1 female (*n* = 1 for future regime) from the lipid dataset.

Group 2: Adult lifespan

This group involved 76 females (*n* = 28 for current regime, *n* = 48 for future regime) and 73 males (*n* = 24 for current regime, *n* = 49 for future regime). Immediately following their emergence, freshly emerged moths were individually kept in clean glass tubes (100 x 15 mm diameter) within their rearing thermal regime. They were supplied daily with water *ad libitum* through soaked cotton plug, and monitored every day (during water provisioning) until death. We then recorded the adult lifespan (in days), expressed as the time elapsed between imaginal emergence and death.

Group 3: Reproductive performance of females and males

A total of 99 females (*n* = 42 for current regime, *n* = 57 for future regime) and 105 males (*n* = 53 for current regime, *n* = 52 for future regime) were allowed to mate in order to assess their reproductive performance. All these individuals were virgin and 24h-old. At dusk, one randomly selected 24h-old virgin individual (female or male) originating from either the current regime or the future regime was confined in a glass mating tube (100 x 15 mm diameter) with one 24h-old virgin standard individual of the opposite sex. These standardised individuals were obtained from the inbred stock population and were weighted as pupae (precision: ± 0.1 mg) with a balance (Pioneer PA214C, OHAUS, Greifensee, Switzerland). They were considered equivalent in terms of quality as sexual partners given the relatively low genetic variation between them and the same standard environmental conditions (see above) they met during development (Moreau et al. 2006). Using standardised individuals as sexual partners for individuals originating from the two thermal treatments enabled to specifically assess the effects of rearing temperature on the reproductive performance of each sex separately (for a similar procedure, see Moreau et al. 2006; Muller et al. 2015). Mating trials lasted 3h under controlled conditions (23.1 ± 0.5°C, 60 ± 5% relative humidity, 100 lx). This duration was selected because the latency to mate in this species does not exceed 3h in cases of no-choice mating trials (Muller et al. 2016b). Temperature was set at 23.1°C (intermediate temperature between the mean temperature of the current regime and the future regime) during mating experiments, irrespectively of the thermal regime from which tested individuals originated. Luminosity during mating trials was set at 100 lx to reflect dusk conditions, as the reproduction of this species occurs at dusk in natural settings. Mating tubes were examined every 15 min to check if genital coupling was initiated. In this species, the complete transfer of the spermatophore during copulation requires more than 15 min: most of the time approximatively 1h is needed (Muller et al. 2015, 2016a, b). Hence, a time lapse of 15 min between two successive inspections is short enough to ensure that every effective mating could have been detected. Individuals for which no copulation was observed within 3h were considered unmated and were discarded from the rest of the experiments.

In cases where a tested female was mated with a standard male, the male was immediately removed after the pair separation and no longer used in the experiments. The female was left in her mating tube and her rearing thermal regime for oviposition. Water was daily provided *ad libitum* through soaked cotton plug. Each tube was checked every morning (during water supply) through visual inspection to count the number of eggs deposited by female until death. Ten days after the end of laying period, egg tubes were examined with a stereomicroscope at 8x magnification to calculate the proportion of the eggs that successfully hatched (fertile eggs). An incubation period of at least 10 days ensured that all viable larvae had hatched from the fertile eggs (Torres-Vila et al. 1999; Moreau et al. 2006; Muller et al. 2015). Mating was considered successful when the tested female laid at least one fertile egg, thus indicating an effective delivering of the spermatophore during copulation. Based on these observations, we recorded four metrics indicative of female's reproductive performance: (i) mating success (proportion of the females that laid at least one fertile egg), (ii) fecundity (total number of eggs deposited by each mated female), (iii) fertility (proportion of the eggs that successfully hatched) and (iv) laying rate (in eggs.day^{-1}, expressed as the ratio between the total number of eggs deposited by each mated female and the number of days elapsed between the appearance of the first and the last eggs laid) (Moreau et al. 2006).

In cases where a tested male was mated with a standard female, the female was removed at the end of copulation and frozen at – 80°C, while the male was no longer used in the experiments. The standard female was further dissected on a glass side to extract the bursa copulatrix containing male's spermatophore. The dissection first enabled to check for the presence of male's spermatophore inside female's reproductive tract (thus indicating successful mating), provided that spermatophore transfer might sometimes fail despite genital coupling. Once spermatophore collected, we extrapolated its size (volume), which provides information about the quantity of sperm and energetic substances transferred to female during copulation (Torres-Vila et al. 1999; Muller et al. 2015). To this purpose, we measured spermatophore dimensions – including length l, width w and thickness t – using a stereomicroscope (Stemi 508, Zeiss, Göttingen, Germany) at 50x magnification (precision ± 1 µm). Considering the spermatophore as an ellipsoid balloon, we then assessed its volume V using the mathematical expression $V = \pi / 6 (l \times w \times t)$. Analyses of these

photographic data were performed with the ZEN imaging software (version 2.3, Zeiss, Göttingen, Germany). Alongside spermatophore volume, we also evaluated sperm quality following the standard procedure developed by Muller et al. (2015). This involved rupturing the spermatophore in a drop of distilled water, delicately stirring the sperm mass to distribute the sperm evenly throughout the water and to isolate encysted eupyrene bundles. Each bundle contains 256 nucleated sperms involved in egg fertilisation. For this reason, the number of eupyrene bundles in the spermatophore can be interpreted as a surrogate for sperm quality, with demonstrated consequences for female's reproductive output (Muller et al. 2015, 2016a). In summary, we included three metrics related to male's reproductive performance: (i) mating success (expressed as the proportion of males that successfully delivered a spermatophore during copulation), (ii) spermatophore volume and (iii) number of eupyrene bundles (sperm quality).

Statistical analyses

Larval development time, pupal development time and pupal mass data were normally distributed and displayed homogenous variances (homoscedasticity) between thermal regimes (current regime and future regime) and sexes. Accordingly, these data were studied with Analyses of Variance (ANOVAs) integrating thermal regime, sex, and the interaction between these two explanatory variables. For energetic budgets, statistical models incorporated thermal regime, sex, their interaction and pupal mass as a single covariate to control for allometric effect on energetic states. The data for body amounts of proteins, lipids and glycogen satisfied both normality and homoscedasticity assumptions. Hence, the variation in the amounts of these energetic compounds was decomposed by means of Analyses of Covariance (ANCOVAs). The distribution of soluble carbohydrates data was skewed towards zero and thus required a Generalised Linear Model (GLM)-negative binomial error to be analysed. Adult lifespan was treated as a function of thermal regime, sex and their interaction within a Cox proportional hazards regression model. For all reproductive traits measured in females (mating success, fecundity, fertility, laying rate) and males (mating success, spermatophore volume, number of eupyrene bundles), statistical models included thermal regime as an explanatory variable and the pupal mass of tested individuals along with the one of their standard partners as two covariates. Mating success of both females and males were compared among thermal regimes with GLM-binomial error. Data for fecundity

and spermatophore volume met the criteria of normality and homoscedasticity, while for laying rate a square root transformation was needed to reach normality. Consequently, all these data were studied with ANCOVAs. Fertility was expressed in proportions and therefore tested using a GLM-quasi binomial error with a logit link function. As discrete count data, the number of eupyrene bundles was analysed with a GLM-negative binomial error. Normality and homoscedasticity were evaluated with a Shapiro-Wilk and a Levene test, respectively. All statistical analyses were carried out using R 3.5.1 software.

Results

Larval development time, pupal development time, pupal mass

Larval development time was affected by thermal regime and sex in an additive way (Table 2). Individuals reared in the warm regime (future regime) exhibited shorter larval development time relative to individuals reared in the cold regime (current regime), and females developed slower than males (Fig. 1A). Pupal development time was impacted by the interactive effect between thermal regime and sex, indicating that the reduction in pupal development time observed under warm conditions was more pronounced for females than for males (Table 2, Fig. 1B). Pupal mass was only affected by sex, as females being heavier than males (Table 2, Fig. 1C).

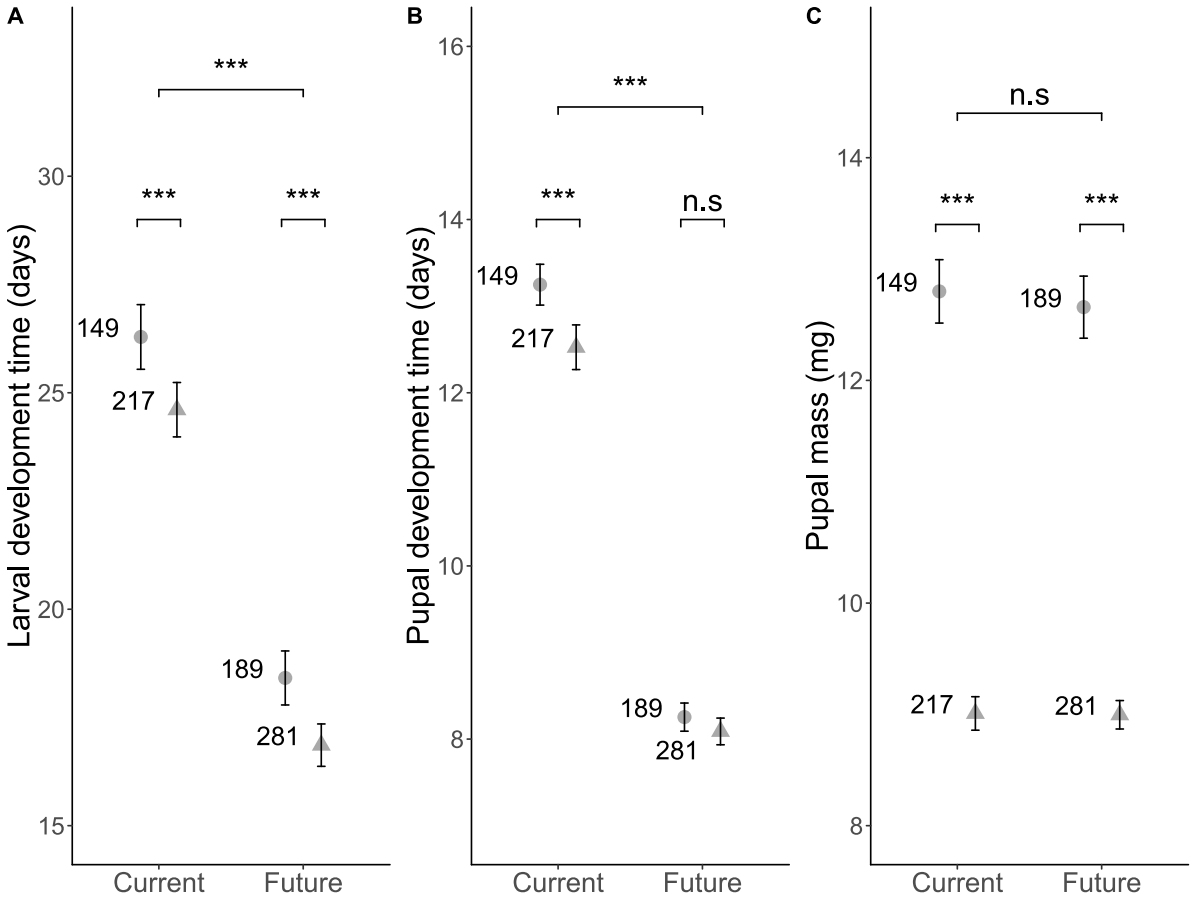


Fig. 1 Effect of thermal regime on the mean (± 95% confidence interval) of: **A** larval development time (from egg hatching to pupation), **B** pupal development time (from pupation to adult emergence), and **C** pupal mass in both sexes (circles: females, triangles: males). Asterisks indicate significant differences (*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$), n.s means non-significant and numbers refer to sample sizes

Group 1: Energetic budgets upon emergence

All the four energetic compounds were impacted by sex in the same way, but did not respond to thermal regime or to the interaction between thermal regime and sex (Table 2). Females stocked higher amounts of proteins, lipids, glycogen and soluble carbohydrates than males (Fig. 2A,B,C,D). Furthermore, the amounts of the four energetic compounds were positively influenced by pupal mass: heaviest individuals possessed higher amounts than lightest ones (proteins: $F_{1,145}$ = 81,2; P < 0.001; slope = 80.1; lipids: $F_{1,149}$ = 11.1; P < 0.001; slope = 45.1; glycogen: $F_{1,150}$ = 60.7; P < 0.001; slope = 13.0; soluble carbohydrates: χ^2_1 = 12.7; P < 0.001; slope = 0.21).

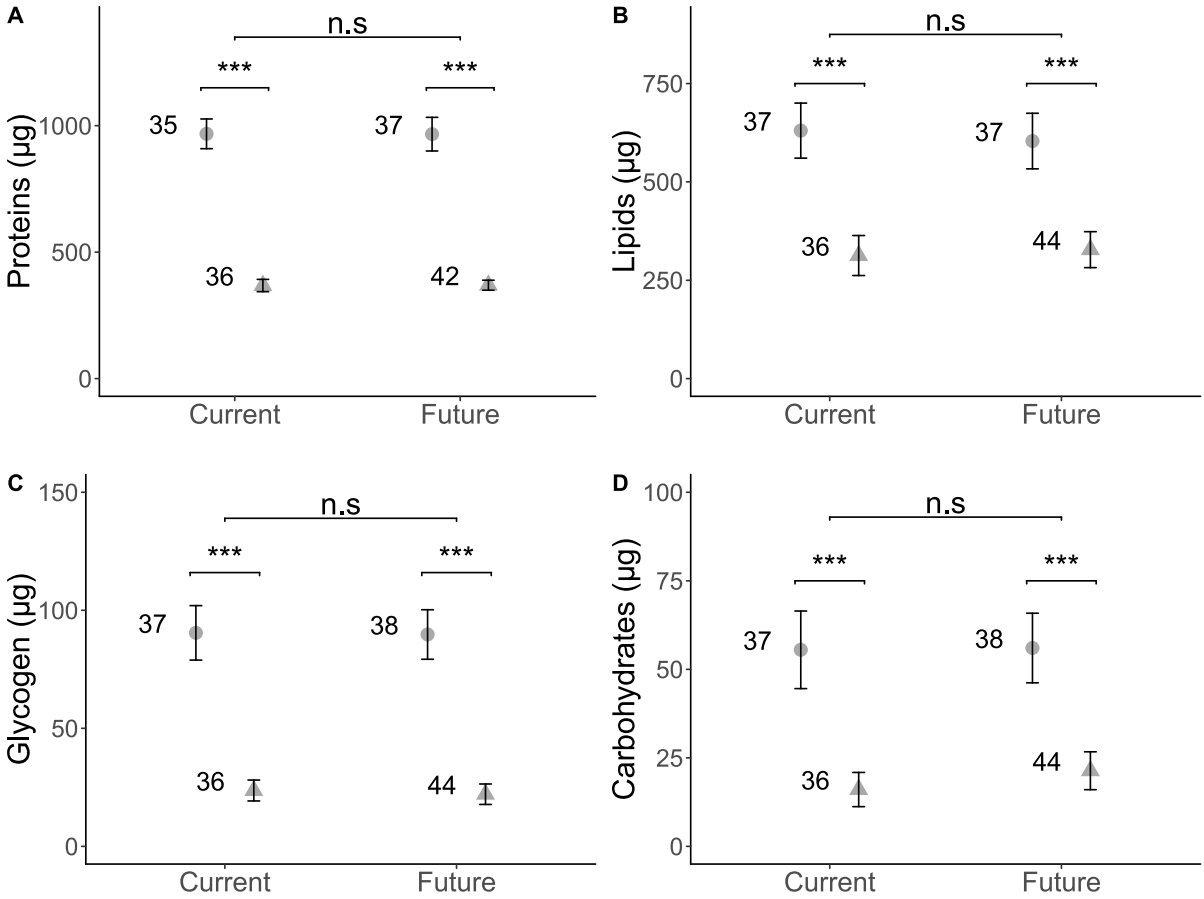


Fig. 2 Effect of thermal regime on the mean (± 95% confidence interval) of the body amounts of four energetic compounds: **A** proteins, **B** lipids, **C** glycogen, and **D** soluble carbohydrates in both sexes (circles: females, triangles: males). Asterisks indicate significant differences (*** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05), n.s means non-significant and numbers refer to sample sizes

Group 2: Adult lifespan

Adult lifespan was impacted by thermal regime, but not by sex or by the interaction between these two factors (Table 2). Individuals of both sexes reared and kept within warm conditions died faster than those reared and held under cool conditions (Fig. 3).

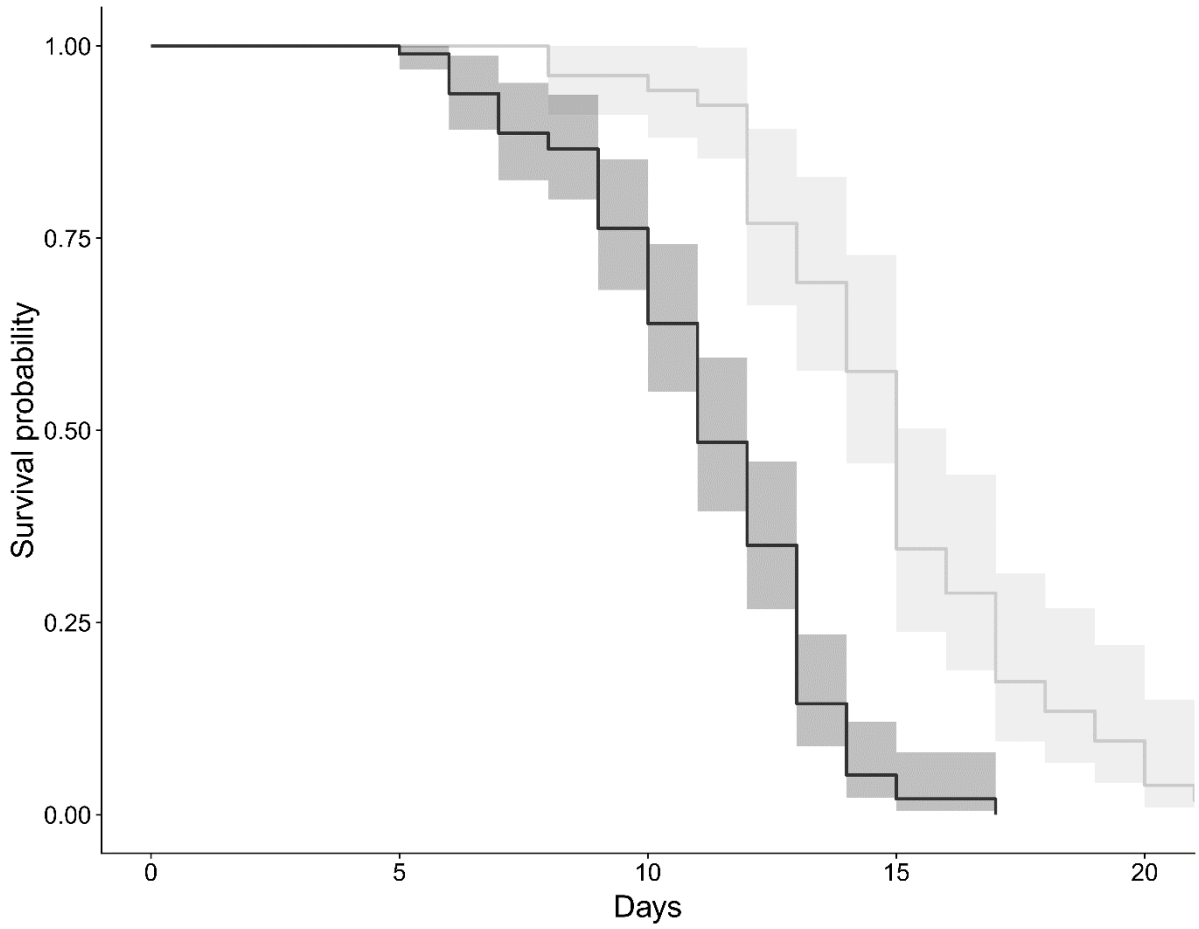


Fig. 3 Effect of thermal regime (grey: current regime, black: future regime) on adult lifespan (± 95% confidence interval), expressed as a survival probability function of individual age. Data for males and females were pooled together as non-statistically different

Group 3: Reproductive performance of females and males

Females originating from warm conditions had a lower mating success compared with females reared in cool conditions (GLM-binomial error: χ_1^2 = 7.28, P = 0.01) (Fig. 4A). By contrast with mating success, fecundity (ANCOVA: $F_{1,59}$ = 0.22, P = 0.64), fertility (GLM-quasi binomial error: χ_1^2 = 0.88, P = 0.06) and laying rate (ANCOVA: $F_{1,59}$ = 2.70, P = 0.10) did not respond to temperature (Fig. 4B,C,D). Among female's reproductive traits, only fecundity was affected (positively) by female's pupal mass ($F_{1,59}$ = 4.71, P = 0.03, slope = 10.5) and the pupal mass of the standard male ($F_{1,59}$ = 4.1, P = 0.04, slope = 11.1): the heavier the female and the standard male mated with, the higher the number of eggs produced.

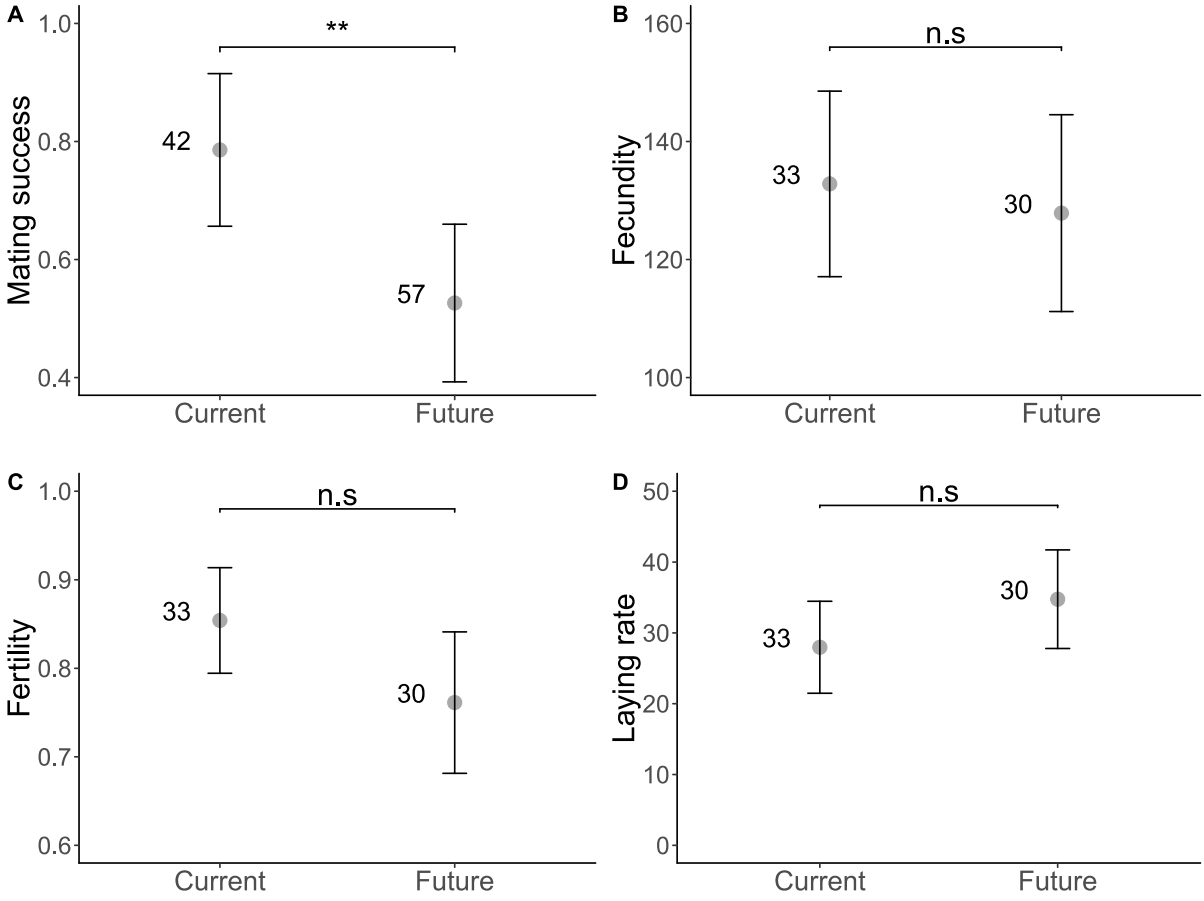


Fig. 4 Effect of thermal regime on the mean (± 95% confidence interval) of the four reproductive traits measured in females: **A** mating success, **B** fecundity (total number of eggs laid by one female), **C** fertility (percentage of the eggs that successfully hatched), and **D** laying rate (fecundity/oviposition duration, in eggs.day^{-1}). Asterisks indicate significant differences (*** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05), n.s means non-significant and numbers refer to sample sizes

Among male's reproductive traits, mating success (GLM-binomial error: χ_1^2 = 0.77, P = 0.38) and spermatophore volume (ANCOVA: $F_{1,77}$ = 0.14, P = 0.71) remained unaffected by thermal regime (Fig. 5A,B). However, spermatophores from males reared under warm conditions contained fewer eupyrene bundles than those produced by males originating from cold conditions (GLM-negative binomial error: χ_1^2 = 18.3, P < 0.001) (Fig. 5C). None of the male's reproductive traits was impacted by either male's pupal mass or the pupal mass of the standard female mated with.

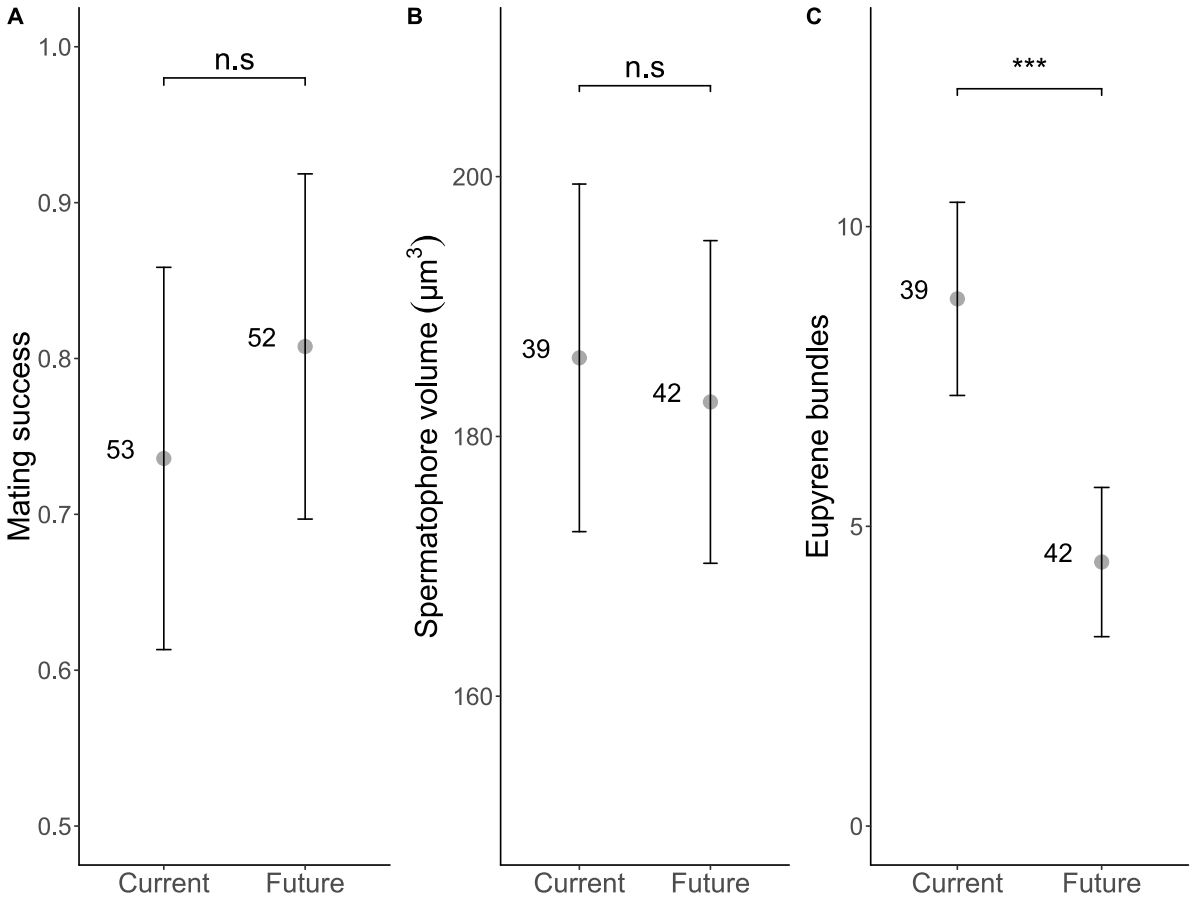


Fig. 5 Effect of thermal regime on the mean (± 95% confidence interval) of the three reproductive traits measured in males: **A** mating success, **B** spermatophore volume, and **C** number of eupyrene bundles contained in sperm. Asterisks indicate significant differences (*** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05), n.s means non-significant and numbers refer to sample sizes

Table 2 Effects of thermal regime, sex and their interaction on larval development time (from egg hatching to pupation), pupal development time (from pupation to adult emergence), pupal mass, the body amounts of four energetic compounds and adult lifespan. Groups 1 and 2 refer to experimental groups to which individuals were assigned throughout the experiments. Significant differences ($P < 0.05$) are shown in bold type

	Thermal regime		**Sex**		**Thermal regime * Sex**	
	Test value	*P*	*Test value*	*P*	*Test value*	*P*
Larval development time	$\mathbf{F_{1,832} = 639}$	**< 0.001**	$\mathbf{F_{1,832} = 26.5}$	**< 0.001**	$F_{1,832} = 0.04$	0.84
Pupal development time	$\mathbf{F_{1,832} = 2024}$	**< 0.001**	$\mathbf{F_{1,832} = 15.3}$	**< 0.001**	$\mathbf{F_{1,832} = 7.00}$	**0.01**
Pupal mass	$F_{1,832} = 0.67$	0.41	$\mathbf{F_{1,832} = 1308}$	**< 0.001**	$F_{1,832} = 0.39$	0.53
Group 1						
Proteins	$F_{1,145} = 0.66$	0.42	$\mathbf{F_{1,145} = 1093}$	**< 0.001**	$F_{1,145} = 0.88$	0.35
Lipids	$F_{1,149} = 0.49$	0.48	$\mathbf{F_{1,149} = 108}$	**< 0.001**	$F_{1,149} = 0.16$	0.68
Glycogen	$F_{1,150} = 1.41$	0.24	$\mathbf{F_{1,150} = 387}$	**< 0.001**	$F_{1,150} = 0.93$	0.34
Carbohydrates	$\chi^2_1 = 0.09$	0.77	$\boldsymbol{\chi^2_1 = 71.3}$	**< 0.001**	$\chi^2_1 = 0.24$	0.63
Group 2						
Adult lifespan	$\boldsymbol{\chi^2_1 = 55.3}$	**< 0.001**	$\chi^2_1 = 3.06$	0.08	$\chi^2_1 = 1.19$	0.28

Discussion

Using realistic fluctuating regimes, this study sought to investigate the impacts of global warming on the reproduction of a major grapevine pest, the European grapevine moth. We found clear evidence revealing that moth developmental and reproductive physiology is influenced by temperatures experienced throughout ontogeny. When reared in warmer conditions, individuals of both sexes developed faster from egg to adult while incurring a reduced adult lifespan. By contrast with our initial expectations, pupal mass and energetic budgets in both sexes remained unaffected by the increase in mean temperature, in spite of a highly reduced duration of larval stage observed in warm conditions. Focusing on reproductive traits, females that developed in warm conditions underwent reduced mating success (-26%), while males reared in warm conditions suffered decreased sperm quality, that is, a lower number of eupyrene bundles contained in their spermatophore (-50%). Our results indicate that global warming should increase the voltinism (through plastic changes in development rates) and decrease the reproductive success of this phytophagous insect (reduction in adult lifespan, female's mating success, male's fertility). In terms of pest management, our findings might contribute to increase the ecological realism of PBDMs and improve the accuracy of their predictions about the population dynamics of *L. botrana*.

Lobesia botrana caterpillars and pupae show increasing development rates as temperature rises up to 28-30°C, considered as the optimal temperatures for development in this species (Briere and Pracros 1998). Hence, the experimental warming here applied (mean temperature rising from 20.5°C to 25.8°C) brought environmental temperature closer to the thermal optimum for development of *L. botrana* immature stages, resulting in a significant speeding of larval and pupal development. In terms of population dynamics, these results suggest that global warming should highly accelerate the life cycle of *L. botrana* and reduce its generation time. This could lead to an increase in pest voltinism (number of generations completed during one growing season) as observed in six vine growing regions in Spain, where *L. botrana* now displays a fourth additional flight (Martín-Vertedor et al. 2010). The absence of temperature-related differences in pupal mass and energetic budgets suggests that caterpillars may be able to compensate for a shortened time allowed for feeding in warm conditions. These findings match the results of a previous study conducted on *L. botrana*, which outlined an increase in daily gain of body mass (i.e.

growth rate) with mean temperature (Iltis et al. 2018). In agreement with these conclusions, several phytophagous species – with examples found in the Lepidoptera order – are known to elevate their food intake rate as temperature increases, probably to fuel higher basal metabolic rates induced by warming (Lee and Roh 2010; Bauerfeind and Fischer 2013; Pandey et al. 2015). We also report here a reduced adult lifespan for individuals reared and held in warm conditions, presumably because, as capital breeders, *L. botrana* adults cannot feed to compensate for the higher energetic losses and reserves consumption occurring with warming (for similar results on capital breeding species, see Laughton et al. 2017). Such a reduction in adult lifespan might have important repercussions for the reproduction of *L. botrana*. In males, it may imply a shorter time allowed for mate sampling in natural and complex habitats, thereby possibly impairing the encounter between sexual partners. In females, it could entail a reduced time available for oviposition and egg dispersion in space, potentially leading to complex consequences for larval density, levels of intraspecific competition and offspring survival on infested bunches (Thiéry et al. 2014).

Focusing on female's reproductive performance, the 26% reduction in mating success observed when comparing the two thermal treatments might be explained by the effects of temperature on the precopulatory phase of reproduction, that is, the pheromonal communication between females willing to mate and males. In *L. botrana*, females signal their sexual receptivity by emitting sex pheromones through the expression of calling behaviour (Muller et al. 2015, 2016a). In our study, rearing temperatures experienced by females before mating tests might have indirectly influenced calling behaviour by affecting enzymatic reactions involved in pheromones biosynthesis (Boullis et al. 2016). In lepidopteran species, temperature is indeed known to alter pheromones production in both quantitative (titres, duration of calling behaviour) and qualitative ways (blends of chemical compounds constituting the olfactory signal for mating) (Ono 1994; Konopka and McNeil 2017). This thermal modulation of pheromones emission may further affect the outcomes of the behavioural interaction between sexual partners (e.g. specific recognition, mating success). With respect to this hypothesis, we might expect the negative effects of warming on female's mating success to be exacerbated in natural, highly heterogeneous environments, where pheromonal signal plays a key role in facilitating the encounter between sexual partners. Despite its negative effects on mating

success, warming did not influence fecundity and fertility, in accordance with the absence of differences regarding female's pupal mass and energetic budgets observed between comparing thermal treatments.

In males, thermal conditions did not influence mating success, suggesting no differences between cold-originating and warm-originating males in terms of access to reproduction and ability to transfer the sperm material during copulation. Temperature did not either modify spermatophore volume as a surrogate for the quantity of sperm and accessory gland secretions delivered to female during mating. As spermatophore was included in our energetic assays and given that male's pupal mass did not vary according to rearing temperature, these results are congruent with the absence of differences in energetic budgets found when comparing males reared in the two thermal regimes. However, our study showed that male's sperm quality – approximated by the number of eupyrene bundles contained in the ejaculate – was severely reduced (-50%) in warm conditions. The negative impacts of warming on male's fertility traits are becoming more and more evident in arthropod species, including sperm number (Zeh et al. 2012; Sales et al. 2018), viability (Stürup et al. 2013; Sales et al. 2018), size (Vasudeva et al. 2014), and ability to migrate through the female's genital apparatus (Sales et al. 2018). Our study brings new evidence showing that eupyrene spermatogenesis in butterfly species is very sensitive to prevailing environmental conditions, particularly temperature (Hiroyoshi and Mitsuhashi 1998). Considering that the number of eupyrene bundles included in male's spermatophore primarily mediates female's egg production in *L. botrana* (Muller et al. 2015, 2016a), further experimental investigations are needed to determine to what extent the decline in male's fertility observed for warm-originating individuals might lower the reproductive success of the pair.

In conclusion, our study has two major implications for PBDMs conception, which could contribute to improve the ecological realism of these models and the accuracy of their local and global predictions about the future of *L. botrana* populations. First, our results show that, using realistic fluctuating thermal regimes, climate change would not impact female's fecundity. Contrarily to these conclusions, equations constituting PBDMs – based on constant temperatures – predict that *per capita* egg production will likely increase over the range of temperatures here examined (considering an increase in mean temperature from 20.5°C to 25.8°C) (Gutierrez et al.

2012, 2017). We argue that such differences between comparisons of constant and fluctuating regimes probably arise from the negative effects of thermal fluctuations in warm conditions on egg production. Indeed, thermal variability might adversely impact an ectotherm physiology if oscillations regularly expose the organism to stressful thermal conditions during the warmest hours of the cycle. Such a phenomenon is likely to become more and more frequent if mean temperature and the range of daily fluctuations increase concomitantly as two facets of global warming, like predicted in our study area (Colinet et al. 2015). Second, by demonstrating that male's fertility was halved with respect to global warming predictions, our study highlights the need for PBDMs to consider (i) how male's reproductive performance is expected to vary according to temperature and (ii) how this variation in male's traits should modulate the offspring production of the pair. It is reasonable to think that the 50% reduction in sperm quality we highlighted will perceptibly reduce female's egg production after mating. For example, a less important decline in the amount of eupyrene sperm (approximately -33%) due to larval alimentation had been shown to negatively impact both female's fecundity (-30%) and fertility (-10%) in a previous study (Muller et al. 2015). Thus, we could expect climate change to reduce the reproductive success of *L. botrana* and the abundance of this pest over generations in Eastern France. In light of our findings, we are firmly convinced that the implementation of realistic patterns of fluctuations together with male's reproductive traits as an integral component of *L. botrana* reproductive success within PBDMs should substantially improve their reliability as tools to develop adequate pest management practices and policies.

Compliance with ethical standards

Funding: This study was funded by the *Conseil Régional de Bourgogne Franche-Comté* through the *Plan d'Actions Régional pour l'Innovation* (PARI) and two other funding sources (FABER LOUAPRE-AGREE-BGS and VALEACLIM-BOIS 20184-07116), and the European Union through the PO FEDER-FSE Bourgogne 2014/2020 programs.

Conflict of interest: The authors declare they have no conflict of interest.

Ethical approval: All applicable institutional and/or national guidelines for the care and use of animals were followed.

References

Bale JS, Masters GJ, Hodkinson ID, et al (2002) Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. Glob Chang Biol 8:1–16 . doi: 10.1046/j.1365-2486.2002.00451.x

Barnay O, Hommay G, Gertz C, et al (2001) Survey of natural populations of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) in the vineyards of Alsace (France). J Appl Entomol 125:469–477 . doi: 10.1046/j.1439-0418.2001.00575.x

Bauerfeind SS, Fischer K (2013) Increased temperature reduces herbivore host-plant quality. Glob Chang Biol 19:3272–3282 . doi: 10.1111/gcb.12297

Boullis A, Detrain C, Francis F, Verheggen FJ (2016) Will climate change affect insect pheromonal communication? Curr Opin Insect Sci 17:87–91 . doi: 10.1016/j.cois.2016.08.006

Briere J-F, Pracros P (1998) Comparison of temperature-dependent growth models with the development of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Environ Entomol 27:94–101 . doi: 10.1093/ee/27.1.94

Castex V, Beniston M, Calanca P, Fleury D, Moreau J (2018) Pest management under climate change: the importance of understanding tritrophic relations. Sci Total Environ 616–617:397–407 . doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2017.11.027

Colinet H, Sinclair BJ, Vernon P, Renault D (2015) Insects in fluctuating thermal environments. Annu Rev Entomol 60:123–140 . doi: 10.1146/annurev-ento-010814-021017

Cozzi G, Pascale M, Perrone G, Visconti A, Logrieco A (2006) Effect of *Lobesia botrana* damages on black aspergilli rot and ochratoxin A content in grapes. Int J Food Microbiol S88-92 . doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.03.012

Daane KM, Vincent C, Isaacs R, Ioriatti C (2018) Entomological opportunities and challenges for sustainable viticulture in a global market. Annu Rev Entomol 63:193–214 . doi: 10.1146/annurev-ento-010715-023547

Delbac L, Thiéry D (2016) Damage to grape flowers and berries by *Lobesia botrana* larvae (Denis & Schiffernüller) (Lepidoptera: Tortricidae), and relation to larval age. Aust J Grape Wine Res 22:256–261 . doi: 10.1111/ajgw.12204

Foray V, Pelisson P-F, Bel-Venner M-C, et al (2012) A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel's method (1985) revisited. Physiol Entomol 37:295–302 . doi: 10.1111/j.1365-3032.2012.00831.x

Fraga H, Malheiro AC, Moutinho-Pereira J, Santos JA (2012) An overview of climate change impacts on European viticulture. Food Energy Secur 1:94–110 . doi: 10.1002/fes3.14

Gilioli G, Pasquali S, Marchesini E (2016) A modelling framework for pest population dynamics and management: an application to the grape berry moth. Ecol Modell 320:348–357 . doi: 10.1016/J.ECOLMODEL.2015.10.018

Gutierrez AP, Ponti L, Cooper ML, et al (2012) Prospective analysis of the invasive potential of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) in California. Agric For Entomol 14:225–238 . doi: 10.1111/j.1461-9563.2011.00566.x

Gutierrez AP, Ponti L, Gilioli G, Baumgärtner J (2017) Climate warming effects on grape and grapevine moth (*Lobesia botrana*) in the Palearctic region. Agric For Entomol 20:255–271 . doi: 10.1111/afe.12256

Hiroyoshi S, Mitsuhashi J (1998) Effects of environmental conditions and aging on eupyrene sperm movement in male adults of *Polygonia c-aureum* (Lepidoptera: Nymphalidae). Zoolog Sci 15:561–566 . doi: 10.2108/0289-0003(1998)15[561:EOECAA]2.0.CO;2

Iltis C, Dechaume-Moncharmont F-X, Galipaud M, et al (2017) The curse of being single: both male and female *Gammarus pulex* benefit energetically from precopulatory mate guarding. Anim Behav 130:67–72 . doi: 10.1016/j.anbehav.2017.06.013

Iltis C, Martel G, Thiéry D, Moreau J, Louâpre P (2018) When warmer means weaker: high temperatures reduce behavioural and immune defences of the larvae of a major grapevine pest. J Pest Sci 91:1315–1326 . doi: 10.1007/s10340-018-0992-y

International Organisation of Vine and Wine (2016) 2017 world vitiviniculture situation: OIV report on world vitiviniculture.

Jacob D, Petersen J, Eggert B, et al (2014) EURO-CORDEX: new high-resolution climate change projections for European impact research. Reg Environ Chang 14:563–578 . doi: 10.1007/s10113-013-0499-2

Konopka JK, McNeil JN (2017) Day-night temperature differential, rather than mean temperature, determines age of sexual maturation in *Straicosta albicosta* (Noctuidae). J Insect Physiol 103:86–90 . doi: 10.1016/j.jinsphys.2017.10.010

Laughton AM, O'Connor CO, Knell RJ (2017) Responses to a warming world: integrating life history, immune investment, and pathogen resistance in a model insect species. Ecol Evol 7:9699–9710 . doi: 10.1002/ece3.3506

Lee KP, Roh C (2010) Temperature-by-nutrient interactions affecting growth rate in an insect ectotherm. Entomol Exp Appl 136:151–163 . doi: 10.1111/j.1570-7458.2010.01018.x

Martín-Vertedor D, Ferrero-García JJ, Torres-Vila LM (2010) Global warming affects phenology and voltinism of *Lobesia botrana* in Spain. Agric For Entomol 12:169–176 . doi: 10.1111/j.1461-9563.2009.00465.x

Moreau J, Benrey B, Thiéry D (2006) Grape variety affects larval performance and also female reproductive performance of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Bull Entomol Res 96:205–212 . doi: 10.1079/BER2005417

Moschos T (2006) Yield loss quantification and economic injury level estimation for the carpophagous generations of the European grapevine moth *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae). Int J Pest Manag 52:141–147 . doi: 10.1080/09670870600639179

Muller K, Arenas L, Thiéry D, Moreau J (2016a) Direct benefits from choosing a virgin male in the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. Anim Behav 114:165–172 . doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2016.02.005

Muller K, Thiéry D, Delbac L, Moreau J (2016b) Mating patterns of the European grapevine moth, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in sympatric and allopatric populations. Biol J Linn Soc 120:685–699 . doi: 10.1111/bij.12901

Muller K, Thiéry D, Moret Y, Moreau J (2015) Male larval nutrition affects adult

reproductive success in wild European grapevine moth (*Lobesia botrana*). Behav Ecol Sociobiol 69:39–47 . doi: 10.1007/s00265-014-1815-7

Ono T (1994) Effect of temperature on biosynthesis of sex pheromone components in potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). J Chem Ecol 20:2733–2741 . doi: 10.1007/BF02036204

Pandey S, Sharma S, Sandhu SS, Arora R (2015) Development and food consumption of some lepidopteran pest under increased temperature conditions. J Agrometeorol 17:36–42 .

Reineke A, Thiéry D (2016) Grapevine insect pests and their natural enemies in the age of global warming. J Pest Sci 89:313–328 . doi: 10.1007/s10340-016-0761-8

Sales K, Vasudeva R, Dickinson ME, et al (2018) Experimental heatwaves compromise sperm function and cause transgenerational damage in a model insect. Nat Commun 9:4771 . doi: 10.1038/s41467-018-07273-z

South A, Lewis SM (2011) The influence of male ejaculate quantity on female fitness: a meta-analysis. Biol Rev 86:299–309 . doi: 10.1111/j.1469-185X.2010.00145.x

Stürup M, Baer-Imhoof B, Nash DR, Boomsma DJ, Baer B (2013) When every sperm counts: factors affecting male fertility in the honeybee *Apis mellifera*. Behav Ecol 24:1192–1198 . doi: 10.1093/beheco/art049

Taylor KE, Stouffer RJ, Meehl GA, et al (2012) An overview of CMIP5 and the experiment design. Bull Am Meteorol Soc 93:485–498 . doi: 10.1175/BAMS-D-11-00094.1

Thiéry D, Louâpre P, Muneret L, et al (2018) Biological protection against grape berry moths. A review. Agron Sustain Dev 38:15 . doi: 10.1007/s13593-018-0493-7

Thiéry D, Monceau K, Moreau J (2014) Larval intraspecific competition for food in the European grapevine moth *Lobesia botrana*. Bull Entomol Res 104:517–524 . doi: 10.1017/S0007485314000273

Torres-Vila LM, Rodríguez-Molina MC, Roehrich R, Stockel J (1999) Vine phenological stage during larval feeding affects male and female reproductive output of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Bull Entomol Res 89:549–556 . doi: 10.1017/S000748539900070X

Vasudeva R, Deeming DC, Eady PE (2014) Developmental temperature affects the expression of ejaculatory traits and the outcome of sperm competition in *Callosobruchus maculatus*. J Evol Biol 27:1811–1818 . doi: 10.1111/jeb.12431

Zeh JA, Bonilla MM, Su EJ, et al (2012) Degrees of disruption: projected temperature increase has catastrophic consequences for reproduction in a tropical ectotherm. Glob Chang Biol 18:1833–1842 . doi: 10.1111/j.1365-2486.2012.02640.x

MANUSCRIT 4

Where you come from matters: temperature influences host-parasitoid interaction through parental effects

Corentin Iltis[a], Jérôme Moreau[a], Corentin Manière[a], Denis Thiéry[b], Lionel Delbac[b], and Philippe Louâpre[a]

[a] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[b] *UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.*

En révisions mineures pour *Oecologia*

Where you come from matters: temperature influences host-parasitoid interaction through parental effects

Corentin Iltis*[1], Jérôme Moreau[1], Corentin Manière[1], Denis Thiéry[2], Lionel Delbac[2] and Philippe Louâpre[1]

[1] UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.

[2] UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.

* Corresponding author. E-mail: corentin.iltis@u-bourgogne.fr. ORCID: 0000-0002-1379-8029[1]

[1] **Author contribution statement**

All authors conceived and designed the experiments. CI and CM performed the experiments. CI, CM and PL analysed the data. CI, PL and JM led the writing of the manuscript. All authors critically revised the intellectual content of the draft and gave their approbation for the final version to be published

Abstract

Temperature alters host suitability for parasitoid development through direct and indirect pathways. Direct effects depend on ambient temperatures experienced by a single host individual during its lifetime (before and after parasitism). Inversely, indirect effects (or parental effects) occur when thermal conditions met by a host parental generation affect the way its offspring will interact with parasitoids. Using the host-parasitoid complex involving eggs of the European grapevine moth *Lobesia botrana* as hosts for the oophagous parasitoid *Trichogramma cacoeciae*, we developed an experimental design to disentangle the effects of: (i) host parental temperature (temperature at which host parental generation developed and laid host eggs) and (ii) host offspring temperature (temperature at which host eggs were placed following parasitism, i.e. direct thermal effects) on this interaction. Host parental generation was impacted by temperature met during its development: *L. botrana* females exposed to warmer conditions grew lighter but laid more host eggs over a 12-hour period. Host parental temperature also affected the outcomes of the interaction between host offspring generation and parasitoids. *Trichogramma cacoeciae* exhibited lower emergence rates but higher body size on emergence with eggs originating from warm conditions. Such indirect thermal effects might arise from a low nutritional quality and/or a high immunity of host eggs laid in warm conditions. By contrast with host parental temperature, offspring temperature (direct thermal effects) did not significantly affect the outcomes of the interaction. This work emphasises the importance of accounting for parental thermal effects to predict the future of trophic dynamics under global warming scenario.

Key words

Host eggs, oophagous parasitoid, parental effects, temperature, trophic dynamics.

Introduction

Host-parasitoid interactions importantly modulate the composition of communities and the functioning of ecosystems in both natural and agricultural landscapes (Godfray 1994). Parasitoids exert top-down control on the structure of food webs by regulating the abundance of phytophagous arthropods, while hosts in turn drastically constrain the size of parasitoid populations through bottom-up control (Walker and Jones 2001; Stireman et al. 2005; Thomson et al. 2010). The strength of these top-down and bottom-up forces is governed by a set of biotic and abiotic factors, among which temperature is unequivocally recognised as a key determinant of host-parasitoid interactions (Hance et al. 2007; van Baaren et al. 2010; Jeffs and Lewis 2013). Undeniably, the body temperature and performance of the host and the parasitoid depend on thermal variation among both latitudes and microhabitats (Hance et al. 2007; van Baaren et al. 2010; Furlong and Zalucki 2017). The thermal sensitivity of these two antagonistic partners makes host-parasitoid interactions likely to be disrupted by global warming (Jeffs and Lewis 2013; Furlong and Zalucki 2017). For instance, Furlong and Zalucki (2017) suggest that increasing global temperatures will produce a greater negative impact on parasitoids distribution, than on their hosts, due to their lower optimal temperature and narrower thermal tolerance range.

At the individual level, host suitability – defined as the theoretical accordance between a parasitoid's requirements to complete its development and a host's physiological, morphological and behavioural features (see Vinson and Iwantsch 1980) – is affected by temperature in several ways. First, temperature determines the host body amounts of several energetic compounds, among them proteins, lipids, glycogen and free carbohydrates (Geister et al. 2009; Kishani Farahani et al. 2016). Since a host is the sole source of nutrients for an immature parasitoid, this thermal variation in host nutritional quality in turn crucially impacts the development of parasitoids and several aspects of their fitness (e.g. longevity, fecundity) (Kishani Farahani et al. 2016). In addition, most parasitoids lack adult lipogenesis and are thus unable to synthesise fat reserves for survival and egg production, which strengthens their dependence regarding the nutritional resources obtained from their host during immature stages (Visser and Ellers 2008). Second, temperature alters host immune function (relying, mostly, on encapsulation and melanisation processes) that aimed at killing parasitoids during their immature stages (Seehausen et al. 2017; Iltis et al. 2018). In this regard,

high temperatures may in some cases stimulate the expression of host immune-related genes with negative consequences for parasitoid survival until emergence. This is especially true if warming concomitantly decreases the ability of the parasitoid to overpass host immune system, for instance by inducing downregulation of polydnavirus transcription (Seehausen et al. 2017). In other cases, warmer conditions can elicit extensive weakening of the host's immunity, thereby enhancing host susceptibility to a parasitic attack (Iltis et al. 2018).

Thermal modulation of host suitability can arise from direct effects, whereby ambient temperatures temporarily or permanently experienced by a single host individual during its lifetime might, for instance, plastically affect the host's immunity (Iltis et al. 2018) and the resulting interaction with parasitoid eggs or larvae (Seehausen et al. 2017). These direct thermal effects are known to influence the outcomes of host-parasitoid interactions (e.g. host infestation rates, parasitoid development time and body mass on emergence, parasitoid emergence rates) (Bahar et al. 2012; Delava et al. 2016; Schreven et al. 2017). Besides direct effects, temperature can also indirectly shape host suitability through parental effects (Sgrò et al. 2016; Woestmann and Saastamoinen 2016; Donelson et al. 2018). Parental effects occur when conditions encountered by parental generation influence the expression of a phenotype in the subsequent generation (Sgrò et al. 2016; Donelson et al. 2018). Indeed, environmental conditions experienced by a host parental generation – such as temperature, host plant nutritional quality or immune challenge – have demonstrated influence on a large variety of offspring traits related with their suitability for parasitoids (e.g. size, mass, amounts of energetic metabolites, immunity) (Geister et al. 2009; Janowitz and Fischer 2011; Eggert et al. 2015; Trauer-Kizilelma and Hilker 2015; Moreau et al. 2016). In that respect, temperatures faced by a host parental generation during development and reproduction can be expected to mediate the interaction involving the host's progeny and parasitoids. However, to what extent temperature might drive the dynamics of the interaction through such parental effects remains unexplored, together with the relative importance of direct and parental effects for the outcomes of the interaction. From a global warming perspective, such a knowledge gap might limit our ability to forecast the impacts of rising temperatures for the future of host-parasitoid interactions. Indeed, this climatic disturbance will persist across generations and is therefore expected to

affect species and interspecific relationships through direct and parental effects in a cumulative way (Sgrò et al. 2016; Donelson et al. 2018).

Here we investigated the consequences of direct and parental thermal effects for an interaction between host eggs and oophagous parasitoids. We developed an experimental design that allowed us to separate the relative impacts of: (i) parental thermal effects, through variations in temperatures experienced by a host parental generation from larval development to egg laying (i.e. parental temperature), and (ii) direct thermal effects, through variations in ambient temperatures at which host eggs were incubated following parasitism (i.e. offspring temperature). As an experimental imitation of global warming, we built two realistic, fluctuating regimes reflecting current and future thermal conditions in our focal area (Eastern France). We focused on the host-parasitoid complex constituted by eggs of one of the most harmful vineyard pests: the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae), as host for the oophagous parasitoid *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) – one candidate for the biological control of *L. botrana* populations (Pizzol et al. 2012; Thiéry et al. 2018). Considering that parental effects are known to be a major source of variation in offspring quality traits, particularly in the early life stages like eggs (reviewed by Woestmann and Saastamoinen 2016), we hypothesised that host egg suitability for parasitoids should be influenced by parental temperature to a greater extent than offspring temperature. Specifically, we expected lower parasitoid emergence rates with host eggs originating from warm conditions, as a consequence of a low suitability of these eggs. Indeed, higher temperatures experienced by *L. botrana* parents during development should shorten the duration of their larval stage and reduce their food intake – congruently with a previous work conducted on this species (Iltis et al. 2018). Lower larval food intake should, in turn, negatively affect parental investment in egg quality, because *L. botrana* adults are non-feeding and their reproductive output, along with egg quality traits, tightly hinge on resources accumulated as caterpillars (Moreau et al. 2006, 2016).

Materials and methods

Thermal regimes

Thermal regimes used in this study reflected realistic current and future climatic conditions in Burgundy, Eastern France (Longvic-Dijon weather station, 47,27°N; 5,09°E; altitude = 219 m) (www.meteofrance.com). These regimes focused on summer period, extending from 15-July to 15-Aug, because this date range is associated with high levels of activity for the host and the parasitoid in Eastern France, as shown by concomitant peaks of adult moth emergence and number of *L. botrana* eggs parasitised by *T. cacoeciae* (Barnay et al. 2001). The thermal regime designed to reflect conditions currently found in Burgundy, called the current regime, was generated according to 20-year recordings of *in situ* hourly temperatures (1995-2014 period). The future regime described the summer thermal conditions (15-July to 15-Aug) likely to occur in Burgundy by the end of this century (2081-2100 period). To design the future regime, we combined six General Circulation Models and six Regional Climate Models, selecting the most pessimistic greenhouse gas emissions scenario: RCP 8.5 (see Beaumont et al. 2008; Ziter et al. 2012; Thompson et al. 2013 for an in-depth description of the use of climate models in ecology). Data are available on the Drias portal (www.drias-climat.fr). Daily cycles constituting the current regime and the future regime were composed of six temperature segments, each lasting 4h and calculated (i) as the mean segment over the 30 days (15-July to 15-Aug) and the 20 years of *in situ* data for the current regime, or (ii) as the mean segment over the six simulations run for the future regime (Fig. 1). Compared with the current regime, the future regime shows an increase in mean temperature (25.8°C for future regime *versus* 20.5°C for current regime) and thermal range: the difference between maximum and minimum daily temperatures (5.6°C for future regime *versus* 5.0°C for current regime) (Fig. 1).

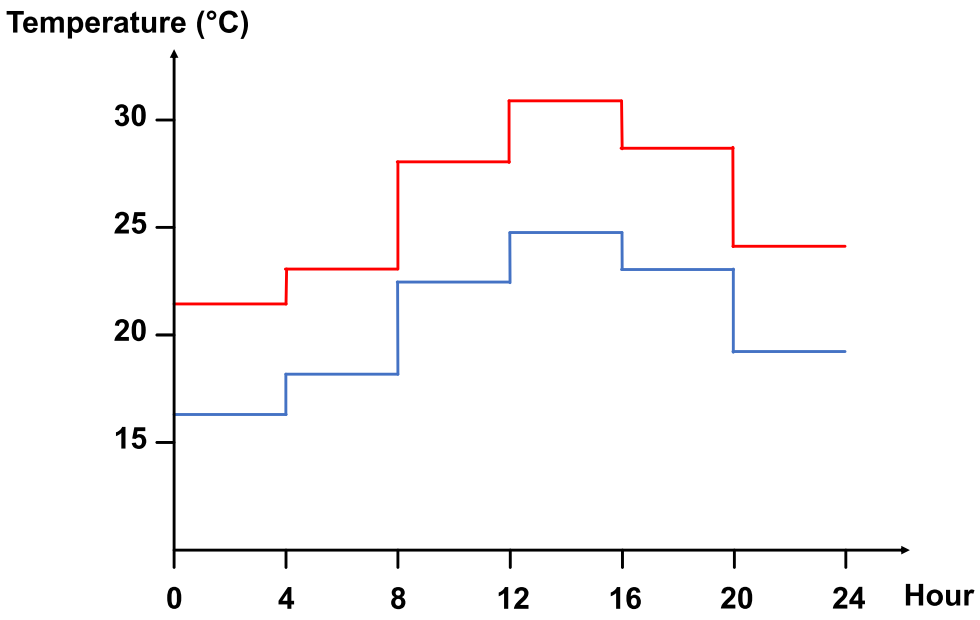


Figure 1 The two thermal regimes included in this study: current regime (blue lines) and future regime (red lines). Daily cycles were divided into six temperature segments of 4h each. The current regime describes the thermal conditions recorded in Burgundy (Dijon) during summer (15-July to 15-Aug) over recent period (1995-2014). The future regime forecasts the summer thermal conditions that might be observed in Burgundy by the end of the century (2081-2100), positing massive and growing future emissions of greenhouse gas. This regime is based on the predictions given by six combinations of climate models.

Moth maintenance and host egg production

All *L. botrana* individuals used in this experiment belonged to a laboratory, diapause-free population maintained at the French National Institute for Agricultural Research (INRA, Villenave d'Ornon, France). This large stock was comprised of several thousand adults per week, and was regularly supplemented with wild individuals collected from nearby vineyards (cultivar Sémillon) to preserve genetic diversity (Vogelweith et al. 2014). Moths were reared in a large cage at 20 ± 0.5°C, 60 ± 5% relative humidity, under a light cycle of L17: D6 with one hour of dusk. Luminosity reached 650 lx during photophase and fell to 100 lx at dusk. Two bands of waxed paper (5 x 10 cm) were hung inside the cage for egg laying. Every 3 days, these oviposition

supports were renewed and transferred into plastic boxes covered by a moist piece of paper towel to protect eggs from desiccation until hatching.

During two months, a total of 5520 freshly hatched larvae (age < 24h) were continuously collected with a fine brush and isolated in Eppendorf tubes filled with 1.5 ml of artificial medium that is classically used for the laboratory rearing of this species (composition for 1000 ml: 1000 ml water, 15 g agar, 86.6 g maize flour, 41.3 g wheat germ, 45.5 g beer yeast, 6 g ascorbic acid, 3.4 g mineral salt, 0.32 g Scala, 2.7 g benzoic acid, 2.8 g Nipagin and 5 ml 95% ethanol) (Thiéry and Moreau 2005; Muller et al. 2016; Iltis et al. 2018). Individual rearing in Eppendorf tubes avoided larval competition and subsequent food deprivation (Thiéry et al. 2014). Tube caps were drilled for air circulation and covered with a piece of fine mesh fabric to prevent larvae from escaping. Individuals were randomly assigned to four incubators (ST 2/2 BASIC, Pol-Eko Aparatura, Wodzisław Śląski, Poland), two of which being programmed to run the current regime and the other two to run the future regime (temperature ± 0.1°C, 50 ± 10% relative humidity, L18: D6, 650 lx). Twice a week, larvae from a given thermal regime were switched between the two climate chambers running this regime, as well as the relative locations of individuals inside these chambers. Temperatures inside the devices were recorded by independent data loggers (Hobo, Onset Computer Corporation, Bourne, USA) and conformed to the thermal regimes programmed during the whole course of the experiments. To limit disturbance, larval development was monitored only when swapping caterpillars between incubators (i.e. twice a week).

Immediately following pupation, chrysalises were carefully extracted from their silk cocoons with fine forceps and weighed to the nearest 0.1 mg with a balance (Pioneer PA214C, OHAUS, Greifensee, Switzerland). Chrysalises were subsequently isolated in clean glass tubes (70 x 9 mm diameter) closed by cotton plugs before being returned to their rearing thermal regime. They were checked daily for imaginal emergence. Moths were sexed upon emergence and were supplied daily with water *ad libitum* through soaked cotton plugs. At dusk, one 24-48h virgin female was randomly placed for one night in a clean glass mating tube (100 x 15 mm diameter) with one 24-72h virgin male originating from the same thermal regime. We restricted the age ranges of sexual partners, and only used virgin individuals because age and mating history are known to affect several traits in this species that influence egg quality (e.g. spermatophore volume, number of eggs laid, egg size) (Moreau et al.

2006; Muller et al. 2016). Males were removed the following morning to avoid multiple mating, and were no longer used for the experiments. Females were allowed to oviposit freely in their mating tube closed by a daily soaked cotton plug as a water supply. Mating and egg laying occurred within the thermal regime from which the pair originated.

The number of eggs laid by females was recorded every morning via visual inspection. Only mating tubes containing at least 30 eggs laid within 12h (i.e. during one single night) were used for parasitism tests. A lower limit of 30 eggs was set to ensure that host egg number was not a limiting factor for the parasitoid during parasitism tests and to reduce variation in host egg density. For the purpose of standardisation, host egg age was restricted to 12h or less because it might affect the outcomes of interactions with *T. cacoeciae* (e.g. number of eggs parasitised, parasitoid emergence rates) (Moreno et al. 2009; Pizzol et al. 2012). In addition, using such freshly laid host eggs is appropriate to investigate parental thermal effects, because these eggs have been exposed to environmental conditions for a very short duration before parasitism tests. Hence, variation in their suitability for parasitoid should be importantly driven by parental effects. This selection procedure retained 512 mating tubes out of a total of 734 tubes, which represents 98% of the 523 tubes with eggs found inside. This high percentage can be explained by the fact that *L. botrana* females usually lay the largest amounts of eggs at the beginning of their oviposition period, especially during the first night succeeding to mating (Moreau et al. 2016). *Lobesia botrana* females were then removed and the tubes of freshly laid eggs were photographed using a stereomicroscope at 8x magnification (Stemi 508, Zeiss, Göttingen, Germany). For each tube, one picture including five eggs on the same horizontal plane was taken to reliably estimate mean egg size (surface area) within the clutch (Moreau et al. 2016). We then randomly selected 123 pictures (n = 57 for current regime, n = 66 for future regime) and assessed the surface of five eggs for each picture (estimated as an elliptic surface, $S = \pi \times a \times b$ in mm², where a and b are the ellipse semi-axes) with a precision of ± 0.001 mm². The photographic data were analysed with ImageJ software (version 1.51j8, National Institutes of Health, Bethesda, USA).

Parasitoid maintenance and parasitism procedure

Experimental lines of *T. cacoeciae* involved in this study were all thelytokous, and therefore only constituted by females. We integrated four replicate experiments based on four parasitoid strains originating from different field sites, in order to generalise our conclusions about the thermal modulation of host egg suitability to a generic parasitoid pressure. These strains were derived from field populations collected in June 2017 at four French localities: Aime (45,33°N; 6,39°E), Banyuls-sur-Mer (42,45°N; 3,09°E), Le Crouzet (44,38°N; 3,63°E) and Sophia Antipolis (43,61°N; 7,08°E). These sites were chosen because they are distant enough from each other to avoid any confounding genetic effect, given the relatively low dispersal abilities of *Trichogramma* species (Fournier and Boivin 2000). Wild populations were initially sampled on *Rosa sp.* and *Prunus sp.* with baits comprised of cards covered with ultraviolet sterilised eggs of the Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* (age < 5 days) as a substitute host. Parasitoids emerging from these baits were used to establish laboratory colonies. Until the start of the experiments (i.e. during 9 months), they were reared in plastic culture tubes plugged with cotton (10 x 1 cm diameter) under controlled common conditions (23.1 ± 0.5°C, 60 ± 5% relative humidity, photophase of L18: D6, 650 lx). One piece of cardboard (1 x 6 cm) covered with ultraviolet sterilised eggs of *E. kuehniella* (age < 5 days) was provided for parasitoid multiplication. After 4 days of exposure, the cardboard pieces were transferred to clean rearing tubes for parasitoid emergence. A droplet of honey was deposited into each rearing tube to feed emerged adults. Prior to our parasitism tests, individuals originating from the four collected strains were genetically identified to ensure that no contamination had occurred within each strain (Pizzol et al. 2005).

Only virgin *T. cacoeciae* females, less than 24h old, were picked for the experiments. Parasitoid age was restricted (< 24h) to standardise its effects on the total number of host eggs parasitised (Pizzol et al. 2012). Tubes of freshly emerged parasitoids were gently tapped until *T. cacoeciae* females fell from the tubes. A tube of host eggs was then inversely placed over the parasitoid until it climbed the walls of the tube. We only selected actively moving parasitoids tipped from their rearing tubes to make sure their physical integrity had not been altered during manipulation. To avoid any confusion, *T. cacoeciae* females used to parasitise *L. botrana* eggs will be referred to as ‘mothers’ and those that emerged from these eggs will be called ‘daughters’.

Each day, host egg tubes originating from each thermal regime were equally distributed among *T. cacoeciae* strains to ensure temporal randomisation. Parasitism tests were conducted under a common temperature of 23.1°C (± 0.5°C, 60 ± 5% relative humidity, 650 lx) to standardise the effect of ambient temperature on parasitoid behaviour, and also because 23.1°C is the rearing temperature of parasitoids as well as the intermediate temperature from which host egg tubes originated: between the mean temperatures of the current regime (20.5°C) and the future regime (25.8°C). Parasitoid mothers were introduced inside host egg tubes at 9.00 a.m. and delicately removed with a fine brush at 3.00 p.m. Exposure duration was set at 6h to ensure parasitism was not limited by the number of host eggs available and to avoid superparasitism. Indeed, more than 6h should be needed for one *T. cacoeciae* female to parasitise at least 30 eggs of *L. botrana* under the controlled conditions at which parasitism occurred (Moreno et al. 2009). No food nor water was supplied to parasitoid mothers during the experiments. After their removal from host egg tubes, *T. cacoeciae* mothers were placed individually in clean Eppendorf tubes until their death. Using a stereomicroscope at 100x magnification (Stemi 508, Zeiss, Göttingen, Germany), we then measured the length of left hind tibia as an estimation of body size (precision ± 0.1 µm) – following the standard procedure described by Olson and Andow (1998). These measurements were taken to control for an effect of the body size of parasitoid mothers on the number of host eggs parasitised, the percentage of parasitoid emergence, and the body size of parasitoid daughters that emerged from parasitised eggs. Out of an initial 512 tubes, 12 tubes were removed from the dataset because the preservation state of the *T. cacoeciae* mothers used to parasitise these tubes did not permit reliable measurements of hind tibia length.

Host egg incubation and data acquisition

Once parasitoid mothers were removed, host egg tubes were randomly incubated in either the current or the future regime (i.e. independently of the thermal regime they came from). This resulted in four combinations of thermal regimes (current/current, current/future, future/current, future/future), each combination being defined by one ‘parental temperature’ (regime within which host development, reproduction and egg laying occurred) and one ‘offspring temperature’ (regime within which host eggs were incubated following exposure to parasitoids). Each day, tubes of parasitised eggs were equally distributed among the offspring temperatures for temporal randomisation.

Incubation lasted 28 days before tubes inspection. This duration was sufficient to enable the complete development of the host (hatching of *L. botrana* larvae from unparasitised eggs) and the parasitoid (emergence of *T. cacoeciae* daughters from parasitised eggs) until death (Moreau et al. 2009; Moreno et al. 2009). No cannibalism of parasitised eggs by newly hatched *L. botrana* caterpillars was observed. No parasitoid diapause was expected to occur under the environmental conditions – especially temperature and photoperiod – encountered by *T. cacoeciae* mothers and daughters during parasitism tests and post-parasitism incubation, respectively (Pizzol and Pintureau 2008).

After the incubation period, tubes were analysed under a stereomicroscope (Stemi 508, Zeiss, Göttingen, Germany) to record (i) the 'first day fecundity' of the host (total number of eggs laid by one *L. botrana* female during one single night), (ii) the 'apparent parasitism success' of the parasitoid mother (number of host eggs parasitised) and (iii) the 'apparent emergence success' of parasitoid daughters (percentage of host eggs parasitised from which an adult *T. cacoeciae* successfully emerged) (Moreau et al. 2009). We considered an egg as parasitised when it turned from white to grey, given that such a change in colouration is widely acknowledged as a reliable indicator of parasitism by *Trichogramma* species (Hutchison et al. 1990) and because this criterion has been employed in previous studies that used *L. botrana* eggs as host for *Trichogramma* species (Moreau et al. 2009; Pizzol et al. 2012; Thiéry and Desneux 2018). Provided that blackening of the parasitised host eggs occurs at time of parasitoid pupation (Hutchison et al. 1990), our metrics did not include cases where parasitoid died before pupal stage, and therefore provide information about the 'apparent' rather than the 'realised' parasitism of the host eggs. Apparent parasitism success was not expressed in percentages because host eggs were provided *ad libitum* to *T. cacoeciae* mothers during parasitism tests (Moreau et al. 2009). Sterile host clutches (28 tubes out of a total of 500 tubes) were discarded because they were laid by unmated *L. botrana* females and were therefore not subject to similar paternal effects than clutches resulting from successful mating. Tubes with no parasitised egg found inside after exposure to a parasitoid mother (n = 5 for current/current, n = 2 for current/future, n = 1 for future/current, n = 4 for future/future) were conserved for statistical analysis focused on apparent parasitism success as no dead parasitoid mother had been observed after the 6h of parasitism. Dead parasitoid daughters were

carefully collected with a fine brush, and observed under a stereomicroscope at 100x magnification (Stemi 508, Zeiss, Göttingen, Germany) to measure the length of their left hind tibia with the same method used for mothers. As an estimation of body size, hind tibia length is positively correlated with a female's longevity and lifetime fecundity in *Trichogramma* species and can therefore be interpreted as a surrogate of individual performance (Doyon and Boivin 2005). The number of *T. cacoeciae* daughters extracted from each tube varied between zero and five, dependent on the number of daughters that had emerged from host eggs and their preservation state. Following the above selection procedure, 472 tubes were finally inspected (n = 124 for current/current, n = 122 for current/future, n = 108 for future/current, n = 118 for future/future), and hind tibia length measurements were taken from 826 parasitoid daughters collected from 373 tubes (n = 96 for current/current, n = 107 for current/future, n = 89 for future/current, n = 81 for future/future).

Statistical analyses

Pupal mass of *L. botrana* parental generation (i.e. parents which produced the host eggs) was studied with an Analysis of Variance (ANOVA) incorporating temperature experienced by this generation, sex and the interaction between these two explanatory variables. Egg surface and first day fecundity of the host (*L. botrana*) were analysed with statistical models that integrated parental temperature as an explanatory variable, and female and male pupal mass as two covariates. For host egg surface, an Analysis of Covariance (ANCOVA) with mixed effects was performed to account for the random effect represented by the identity of each *L. botrana* female and male. The data for first day fecundity of the host did not satisfy the assumption of homoscedasticity and were therefore compared among parental thermal regimes using a Generalised Linear Model (GLM)-negative binomial error with a log link function.

For apparent parasitism success, apparent emergence success and body size of parasitoid daughters, three covariates were included in the models (pupal mass of *L. botrana* female and male, body size of *T. cacoeciae* mother). As no transformation enabled to reach normality for these discrete data, apparent parasitism success was analysed using a Generalised Linear Mixed Model (GLMM)-negative binomial error with a log link function, incorporating host parental temperature as a fixed effect and parasitoid strain as a random effect. For apparent emergence success, data were expressed in proportions and a GLMM-binomial error with a logit link function was

performed to assess the fixed effects of host parental temperature, host offspring temperature and their interaction while accounting for parasitoid strain as a random effect. Lastly, variation in body size of parasitoid daughters was decomposed by means of an ANCOVA with mixed effects, integrating host parental temperature, host offspring temperature and their interaction as fixed effects; and the identity of *L. botrana* female, male, parasitoid mother and parasitoid strain as random effects.

For all statistical analyses conducted, the best statistical model was selected following a stepwise backward procedure from initial models that included all simple fixed effects and their interaction. Normality and homoscedasticity were evaluated with a Shapiro-Wilk and Bartlett test, respectively. Post-hoc tests based on contrasts among the least square means were conducted to tease out significant differences. A Bonferroni correction was applied to prevent Type I errors. All statistical analyses were carried out using R software (version 3.5.3, R Development Core Team).

Results

Pupal mass, egg surface and first day fecundity of L. botrana *host*

The pupal mass of *L. botrana* parental generation was influenced by the interaction between its rearing temperature and sex ($F_{1,940}$ = 9.11, P < 0.001). In females, pupal mass was negatively impacted by rearing temperature: individuals that developed in the future, warmer regime were significantly lighter than those originating from the current, cooler regime. Mean values of females' pupal mass were 13.6 mg for current regime (95% confidence interval $CI_{95\%}$ = [13.4; 13.8], n = 246) and 13.1 mg for future regime ($CI_{95\%}$ = [12.9; 13.3], n = 226). In males, the pupal mass was not affected by rearing temperature. Mean values of males' pupal mass were 9.4 mg for current regime ($CI_{95\%}$ = [9.3; 9.5], n = 246) and 9.3 mg for future regime ($CI_{95\%}$ = [9.2; 9.5], n = 226). The surface of *L. botrana* eggs was not influenced by parental temperature (χ_1^2 = 3.45, P = 0.06). Eggs originating from the current regime had a mean surface of 0.403 mm² ($CI_{95\%}$ = [0.399; 0.407], n = 57) and those originating from the future regime had a mean surface of 0.411 mm² ($CI_{95\%}$ = [0.407; 0.415], n = 66). The first day fecundity of *L. botrana* females was positively impacted by their rearing temperature (χ_1^2 = 36.4, P < 0.001). Females reared in the future regime produced 19% more eggs within 12h than females reared in the current regime. Mean values of first day fecundity were 63 eggs for females reared in the current regime ($CI_{95\%}$ = [60; 65], n = 246) and 75 eggs for

females which developed in the future regime ($CI_{95\%}$ = [71; 78], *n* = 226). Only first day fecundity was affected by the covariates included in the models and this relation was positive: it increased with female pupal mass (χ_1^2 = 6.31, *P* = 0.01, slope = 0.03) and male pupal mass (χ_1^2 = 4.27, *P* = 0.04, slope = 0.03).

Apparent parasitism success, apparent emergence success and body size of parasitoid daughters

Apparent parasitism success was not affected by host parental temperature (χ_1^2 = 0.28, *P* = 0.60). Among the three covariates included in the model (pupal mass of *L. botrana* female and male, body size of *T. cacoeciae* mother), apparent parasitism success was only positively influenced by the body size of *T. cacoeciae* mother (χ_1^2 = 9.80, *P* < 0.001, slope = 0.01): largest mothers parasitised significantly more eggs during 6 hours than the smallest ones.

Apparent emergence success was modulated by host parental temperature (χ_1^2 = 9.44, *P* < 0.001), but not by host offspring temperature (χ_1^2 = 0.39, *P* = 0.53) or by the interaction between these two factors (χ_1^2 = 2.62, *P* = 0.11). A lower percentage of parasitoid daughters emerged from host eggs originating from the future regime compared with host eggs coming from the current regime (Fig. 2). Among the three covariates included in the model (pupal mass of *L. botrana* female and male, body size of *T. cacoeciae* mother), apparent emergence success was only positively influenced by the pupal mass of *L. botrana* female (χ_1^2 = 40.0, *P* < 0.001, slope = 0.47): the heavier the *L. botrana* female that laid the host eggs, the higher the apparent emergence success of parasitoid daughters from these eggs.

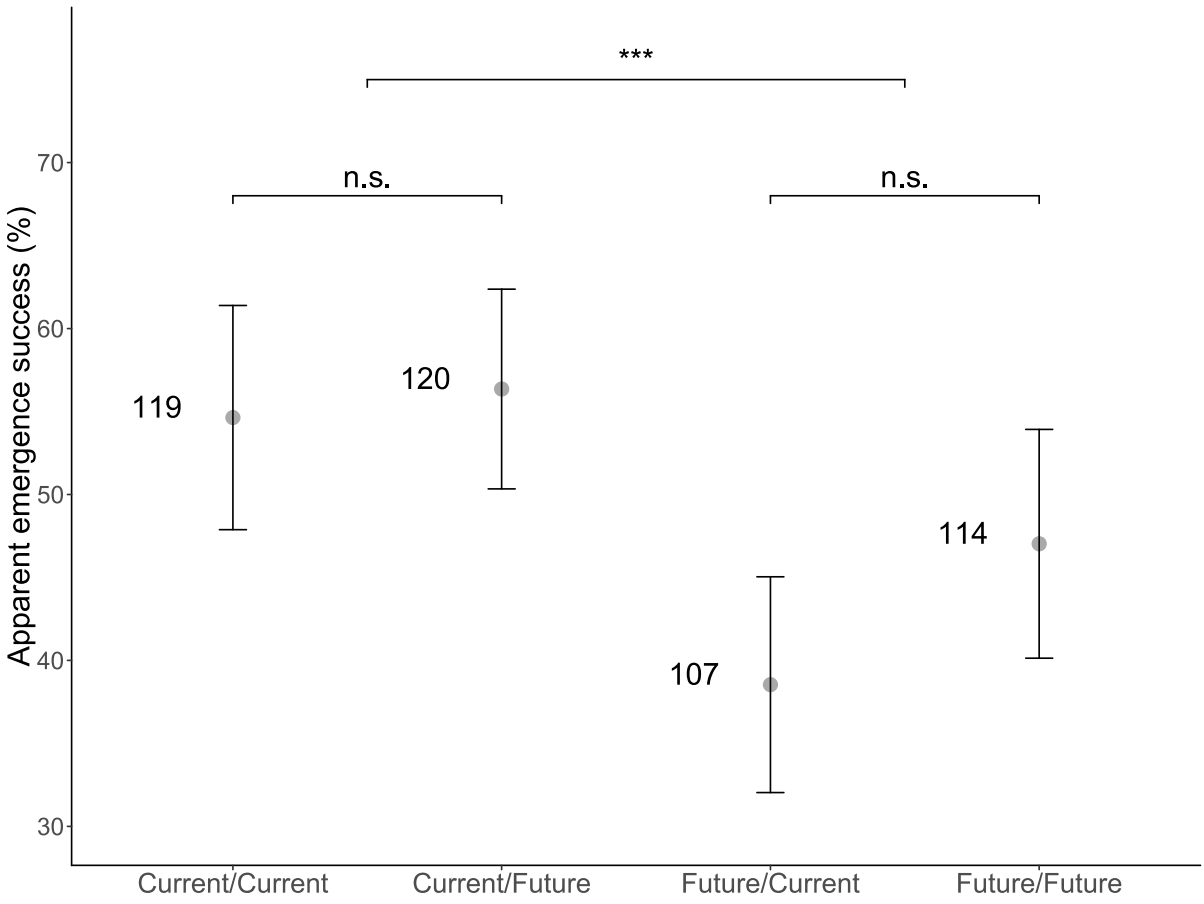


Figure 2 Effects of the combination of host parental temperature (thermal regime within which the host *L. botrana* developed and laid host eggs) and host offspring temperature (thermal regime within which host eggs were incubated following parasitism) on the percentage of parasitised host eggs from which a parasitoid emerged (apparent emergence success of the parasitoid). Represented values correspond to means ± 95% confidence intervals. Numbers associated with bars indicate sample sizes. Asterisks indicate significant differences (*** $P < 0.001$), n.s. means non-significant.

The body size of *T. cacoeciae* daughters that emerged from parasitised *L. botrana* eggs was impacted by host parental temperature (χ_1^2 = 8.55, *P* < 0.001), but not by host offspring temperature (χ_1^2 = 0.40, *P* = 0.53) or by the interaction between these two factors (χ_1^2 = 0.02, *P* = 0.89). Larger parasitoid daughters emerged from host eggs originating from the future regime in comparison with host eggs laid in the current regime (Fig. 3). None of the three covariates included in the model (pupal mass of *L. botrana* female and male, body size of *T. cacoeciae* mother) acted on the body size of parasitoid daughters.

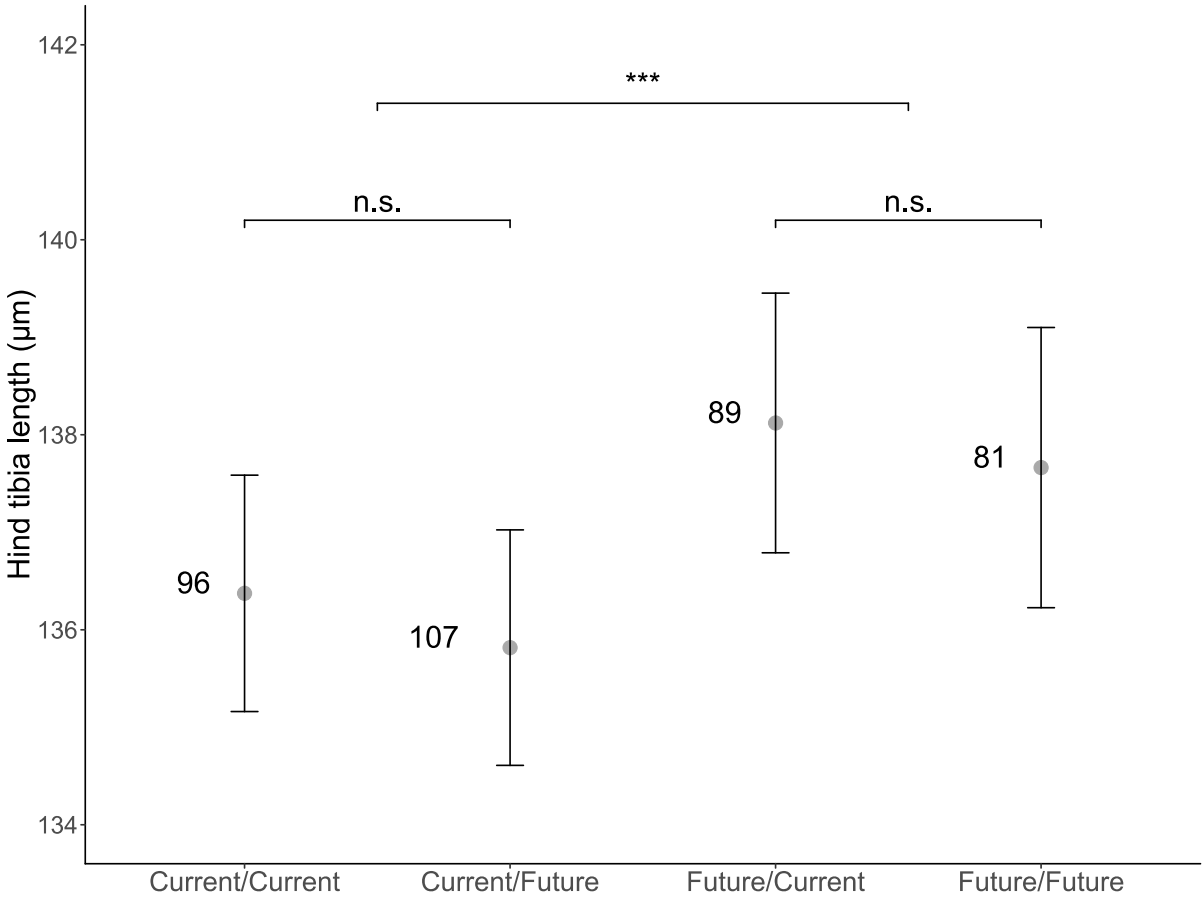


Figure 3 Effects of the combination of host parental temperature (thermal regime within which the host *L. botrana* developed and laid host eggs) and host offspring temperature (thermal regime within which host eggs were incubated following parasitism) on the length of left hind tibia (body size) of emerged parasitoid daughters. Represented values correspond to means ± 95% confidence intervals. Numbers associated with bars indicate sample sizes. Asterisks indicate significant differences (*** *P* < 0.001), n.s. means non-significant.

Discussion

The purpose of this work was to assess the relative importance of parental and direct thermal effects in determining the outcomes of the interaction between eggs of the European grapevine moth *L. botrana* and the oophagous parasitoid *T. cacoeciae*. Our most striking result was the considerable effect of host parental temperature, that is, temperature experienced by host parental generation, on parasitoid apparent emergence success and body size on emergence*. Trichogramma cacoeciae* incurred lower emergence rates, but displayed higher body size on emergence, with host eggs originating from warm conditions (laid in the future regime) compared with eggs produced under cold conditions (laid in the current regime). By contrast with parental effects, direct thermal effects did not perceptibly modulate the outcomes of the host-parasitoid interaction. These findings match our initial expectation that the interaction between freshly laid host eggs and an oophagous parasitoid should be primarily determined by indirect, parental effects. Our results emphasise the importance of accounting for such parental thermal effects with the aim to predict the future of trophic dynamics under global warming scenario.

Two non-mutually exclusive hypotheses might account for the effects of host parental temperature on parasitoid apparent emergence success and body size on emergence. First, parasitoids are constrained by the limited amount of food contained in their single host, and might fail to complete their development if host eggs laid in the future regime provide an insufficient quantity or quality of nutritional resources (i.e. resource-based hypothesis) (Kishani Farahani et al. 2016). Whether this hypothesis is fully relevant to explain our results remains questionable, provided that we did not observe any effect of parental temperature on *L. botrana* egg size as a surrogate of host nutritional quality for the parasitoid. In addition, the resource-based hypothesis poorly explains differences regarding the body size of emerged parasitoids observed. Indeed, low nutritional quality host eggs should be expected to deliver smaller adult parasitoids (Kishani Farahani et al. 2016), while we instead observed a higher body size of *T. cacoeciae* daughters emerging from host eggs produced in warm conditions. As a next step, biochemical assays of the quantities of several energetic metabolites eggs are provisioned with (e.g. proteins, lipids, glycogen, soluble carbohydrates) would be needed to assess more thoroughly the plausibility of this resource-based explanatory hypothesis (Geister et al. 2009).

A second hypothesis, positing differences in egg immunity (i.e. immunity-based hypothesis), can be formulated to explain the importance of host parental temperature for the host-parasitoid relationship. There is a growing body of evidence showing that eggs of lepidopteran hosts are able to mount an immune response to fend off a myriad of invaders, and the efficiency of this endogenous immune barrier is an integral component of their suitability for parasitoids (Abdel-latief and Hilker 2008; Trauer-Kizilelma and Hilker 2015). Host immune defences against parasitism are modulated by parental experience (Triggs and Knell 2012; Trauer-Kizilelma and Hilker 2015), including parental exposure to a brief thermal stress (cold snap or heat spike) (Eggert et al. 2015). In our study, *L. botrana* parents might have faced daily stressful thermal conditions in the future regime – which included temperatures up to 30.5°C for 4h – while a decline in the performance of caterpillars of this species has been pointed out at temperatures exceeding 25°C (Iltis et al. 2018). Such temporarily stressful temperatures met by the host parental generation might have promoted egg immunological defences, and could be potentially responsible for the negative effects of host parental temperature on parasitoid apparent emergence success. With respect to this immunity-based hypothesis, the proximate cause of the positive effect of host parental temperature on *T. cacoeciae* body size remains unknown at this stage. The reason could, for instance, involve a selective pressure exerted by the high immunity of eggs laid in warm conditions acting in favour of the largest parasitoid individuals. Such a phenomenon might occur if the efficiency of host encapsulation and melanisation processes decreases as the size of the foreign body to be encapsulated increases (Pomfret and Knell 2006). Hence, largest parasitoid individuals could be more prone to survive the immune reaction expressed by their host. Considering that host egg immunity should operate during the first steps of the parasitism process, that is, acting on the early-life stages of *Trichogramma* parasitoids (Abdel-latief and Hilker 2008; Trauer-Kizilelma and Hilker 2015), one way to test the immunity-based hypothesis may consist of investigating the effects of host parental temperature on the early mortality of the parasitoid, before the blackening of the parasitised host eggs occuring at time of parasitoid pupation (Hutchison et al. 1990). If this hypothesis is valid, a higher percentage of dead parasitoid eggs and larvae should be expected with host eggs originating from warm conditions compared with host eggs laid in cold conditions.

By contrast with parental thermal effects, direct thermal effects did not contribute to modulate the outcomes of the host-parasitoid interaction measured. In our study, host eggs were exposed to parasitoid shortly after being laid by *L. botrana* females (within 12h). Hence, these freshly laid eggs experienced the direct thermal effects occurring before parasitism for a very short duration, which could mitigate the importance of these direct thermal effects in influencing egg suitability for the parasitoid. It would be worth investigating whether the absence of direct thermal observed effects would persist using host eggs older than 12h. This is especially true considering that temperature primarily mediates embryonic development in insects (Howe 1967), and that the egg developmental stage in turn impacts most of egg traits related with their susceptibility to *Trichogramma* parasitoids. For instance, the egg nutritional resources are progressively consumed for embryonic growth in a temperature-dependent manner (Geister et al. 2009), hence direct thermal effects acting prior to parasitism may influence the amounts of reserves available for parasitoid development. Furthermore, in lepidopteran host eggs, the mechanisms underlying the host immune reaction to parasitoid attack could differ depending on the stage of host embryonic development. Host eggs at an early stage of embryogenesis presumably lack an immediately functional immune system (Strand and Pech 1995) and seem to rely on the upregulation of immune-related genes as an inducible response triggered by parasitoid oviposition (Abdel-latief and Hilker 2008). However, host eggs at a more advanced developmental stage would acquire an operant immune system through the apparition of immune cells involved in encapsulation and melanisation of parasitoid eggs (Nardi 2004). Thus, the nature and possibly the efficiency of the immune barrier mounted by the eggs against parasitic infection could depend on the modulation of the egg development by temperatures encountered prior to parasitism.

In summary, our study lends support to the hypothesis that temperatures experienced by a host parental generation affect the outcomes of a host-parasitoid interaction through parental thermal effects, regardless of the temperature at which the host-parasitoid complex was incubated (i.e. direct thermal effects). Transgenerational plasticity should play a major role in ensuring the local persistence of species in face of global warming (Sgrò et al. 2016; Donelson et al. 2018). However, species do not respond in isolation to climate disturbance, as they tightly depend on each other through ecological linkages, particularly in cases of obligate associations such as host-

parasitoid trophic relationships (Jeffs and Lewis 2013). In this regard, our study is the first to demonstrate that parental thermal effects might influence trophic dynamics beyond effects on individual performance. However, to what extent parental thermal effects persist across ontogenetic stages to affect trophic interactions involving larvae – such as host-parasitoid systems including larval hosts and larval parasitoids, or other kinds of trophic relationships (e.g. host-parasite, insect-plant) – remains to be explored, and could be the focus of further investigations.

Acknowledgements

We would like to thank Géraldine Groussier for providing the parasitoid strains used in the experiments, Sébastien Zito and Benjamin Bois for providing the climatic data. We are also grateful to Alexandre Bauer, Aude Balourdet, Hugo Baali, Léa Bariod and Martin Pêcheur for their practical help during the experiments. This work was supported by the *Conseil Régional de Bourgogne Franche-Comté* through the *Plan d'Actions Régional pour l'Innovation* (PARI) and two other funding sources (FABER LOUAPRE-AGREE-BGS and VALEACLIM-BOIS), and the European Union through the PO FEDER-FSE Bourgogne 2014/2020 programs.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest: The authors declare they have no conflict of interest.

Ethical approval: All applicable institutional and/or national guidelines for the care and use of animals were followed.

Data availability: Data will be made publicly available at Dryad once the paper accepted.

References

Abdel-latief M, Hilker M (2008) Innate immunity: eggs of *Manduca sexta* are able to respond to parasitism by *Trichogramma evanescens*. Insect Biochem Mol Biol 38:136–145 . doi: 10.1016/J.IBMB.2007.10.001

Bahar MH, Soroka JJ, Dosdall LM (2012) Constant versus fluctuating temperatures in the interactions between *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and its larval parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Environ Entomol 41:1653–1661 . doi: 10.1603/EN12156

Barnay O, Hommay G, Gertz C, Kienlen JC, Schubert G, Marro JP, Pizzol J, Chavigny P (2001) Survey of natural populations of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) in the vineyards of Alsace (France). J Appl Entomol 125:469–477 . doi: 10.1046/j.1439-0418.2001.00575.x

Beaumont LJ, Hughes L, Pitman AJ (2008) Why is the choice of future climate scenarios for species distribution modelling important? Ecol Lett 11:1135–1146 . doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01231.x

Delava E, Fleury F, Gibert P (2016) Effects of daily fluctuating temperatures on the *Drosophila – Leptopilina boulardi* parasitoid association. J Therm Biol 60:95–102 . doi: 10.1016/j.jtherbio.2016.06.012

Donelson JM, Salinas S, Munday PL, Shama LNS (2018) Transgenerational plasticity and climate change experiments: where do we go from here? Glob Chang Biol 24:13–34 . doi: 10.1111/gcb.13903

Doyon J, Boivin G (2005) The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. J Insect Sci 5:4–9 . doi: 10.1093/jis/5.1.4

Eggert H, Diddens-de Buhr MF, Kurtz J (2015) A temperature shock can lead to trans-generational immune priming in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. Ecol Evol 5:1318–1326 . doi: 10.1002/ece3.1443

Fournier F, Boivin G (2000) Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. Environ Entomol 29:55–63 . doi: 10.1603/0046-225X-29.1.55

Furlong MJ, Zalucki MP (2017) Climate change and biological control: the consequences of increasing temperatures on host–parasitoid interactions. Curr Opin Insect Sci 20:39–44 . doi: 10.1016/j.cois.2017.03.006

Geister TL, Lorenz MW, Hoffmann KH, Fischer K (2009) Energetics of embryonic development: effects of temperature on egg and hatchling composition in a butterfly. J Comp Physiol B 179:87–98 . doi: 10.1007/s00360-008-0293-5

Godfray HCJ (1994) Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton.

Hance T, van Baaren J, Vernon P, Boivin G (2007) Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. Annu Rev Entomol 52:107–126 . doi: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091333

Howe RW (1967) Temperature effects on embryonic development in insects. Annu Rev Entomol 12:15–42 . doi: 10.1146/annurev.en.12.010167.000311

Hutchison WD, Moratorio M, Martin JM (1990) Morphology and biology of *Trichogrammatoidea bactrae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), imported from Australia as a parasitoid of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs. Ann Entomol Soc Am 83:46–54 . doi: 10.1093/aesa/83.1.46

Iltis C, Martel G, Thiéry D, Moreau J, Louâpre P (2018) When warmer means weaker: high temperatures reduce behavioural and immune defences of the larvae of a major grapevine pest. J Pest Sci 91:1315–1326 . doi: 10.1007/s10340-018-0992-y

Janowitz SA, Fischer K (2011) Opposing effects of heat stress on male versus female reproductive success in *Bicyclus anynana* butterflies. J Therm Biol 36:283–287 . doi: 10.1016/J.JTHERBIO.2011.04.001

Jeffs CT, Lewis OT (2013) Effects of climate warming on host-parasitoid interactions. Ecol Entomol 38:209–218 . doi: 10.1111/een.12026

Kishani Farahani H, Ashouri A, Zibaee A, Abroon P, Alford L (2016) The effect of host nutritional quality on multiple components of *Trichogramma brassicae* fitness. Bull Entomol Res 106:633–641 . doi: 10.1017/S000748531600033X

Moreau J, Benrey B, Thiéry D (2006) Grape variety affects larval performance and also female reproductive performance of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Bull Entomol Res 96:205–212 . doi: 10.1079/BER2005417

Moreau J, Monceau K, Thiéry D (2016) Larval food influences temporal oviposition and egg quality traits in females of *Lobesia botrana*. J Pest Sci 89:439–448 . doi: 10.1007/s10340-015-0695-6

Moreau J, Richard A, Benrey B, Thiéry D (2009) Host plant cultivar of the grapevine moth *Lobesia botrana* affects the life history traits of an egg parasitoid. Biol Control 50:117–122 . doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.03.017

Moreno F, Pérez-Moreno I, Marco V (2009) Effects of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) egg age, density, and UV treatment on parasitism and development of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Environ Entomol 38:1513–1520 . doi: 10.1603/022.038.0520

Muller K, Arenas L, Thiéry D, Moreau J (2016) Direct benefits from choosing a virgin male in the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. Anim Behav 114:165–172 . doi: 10.1016/J.ANBEHAV.2016.02.005

Nardi JB (2004) Embryonic origins of the two main classes of hemocytes - granular cells and plasmatocytes - in *Manduca sexta*. Dev Genes Evol 214:19–28 . doi: 10.1007/s00427-003-0371-3

Olson DM, Andow DA (1998) Larval crowding and adult nutrition effects on longevity and fecundity of female *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Environ Entomol 27:508–514 . doi: 10.1093/ee/27.2.508

Pizzol J, Desneux N, Wajnberg E, Thiéry D (2012) Parasitoid and host egg ages have independent impact on various biological traits in a *Trichogramma* species. J Pest Sci 85:489–496 . doi: 10.1007/s10340-012-0434-1

Pizzol J, Khoualdia O, Ferran A, Chavigny P, Vanlerbeghe-Masutti F (2005) A single molecular marker to distinguish between strains of *Trichogramma cacoeciae*. Biocontrol Sci Technol 15:527–531 . doi: 10.1080/09583150500088934

Pizzol J, Pintureau B (2008) Effect of photoperiod experienced by parents on diapause induction in *Trichogramma cacoeciae*. Entomol Exp Appl 127:72–77 . doi: 10.1111/j.1570-7458.2008.00671.x

Pomfret JC, Knell RJ (2006) Immunity and the expression of a secondary sexual trait in a horned beetle. Behav Ecol 17:466–472 . doi: 10.1093/beheco/arj050

Schreven SJJ, Frago E, Stens A, de Jong PW, van Loon JPA (2017) Contrasting effects of heat pulses on different trophic levels, an experiment with a herbivore-parasitoid model system. PLoS One 12:e0176704 . doi: 10.1371/journal.pone.0176704

Seehausen LM, Cusson M, Régnière J, Bory M, Stewart D, Djoumad A, Smith SM, Martel V (2017) High temperature induces downregulation of polydnavirus gene

transcription in lepidopteran host and enhances accumulation of host immunity gene transcripts. J Insect Physiol 98:126–133 . doi: 10.1016/J.JINSPHYS.2016.12.008

Sgrò CM, Terblanche JS, Hoffmann AA (2016) What can plasticity contribute to insect responses to climate change? Annu Rev Entomol 61:433–451 . doi: 10.1146/annurev-ento-010715-023859

Stireman JO, Dyer LA, Janzen DH, Singer MS, Lill JT, Marquis J, Ricklefs RE, Gentry GL, Hallwachs W, Coley PD, Barone JA, Greeney HF, Connahs H, Barbosa P, Morais HC, Diniz IR (2005) Climatic unpredictability and parasitism of caterpillars: implications of global warming. Proc Natl Acad Sci USA 102:17384–17387 . doi: 10.1073/pnas.0508839102

Strand MR, Pech LL (1995) Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. Annu Rev Entomol 40:31–56 . doi: 10.1146/annurev.en.40.010195.000335

Thiéry D, Desneux N (2018) Host plants of the polyphagous grape berry moth *Lobesia botrana* during larval stage modulate moth egg quality and subsequent parasitism by the parasitoid *Trichogramma cacoeciae*. Entomol Gen 38:47–59 . doi: 10.1127/entomologia/2018/0675

Thiéry D, Louâpre P, Muneret L, Rusch A, Sentenac G, Vogelweith F, Iltis C, Moreau J (2018) Biological protection against grape berry moths. A review. Agron Sustain Dev 38:15 . doi: 10.1007/s13593-018-0493-7

Thiéry D, Monceau K, Moreau J (2014) Larval intraspecific competition for food in the European grapevine moth *Lobesia botrana*. Bull Entomol Res 104:517–524 . doi: 10.1017/S0007485314000273

Thiéry D, Moreau J (2005) Relative performance of European grapevine moth (*Lobesia botrana*) on grapes and other hosts. Oecologia 143:548–557 . doi: 10.1007/s00442-005-0022-7

Thompson RM, Beardall J, Beringer J, Grace M, Sardina P (2013) Means and extremes: building variability into community-level climate change experiments. Ecol Lett 16:799–806 . doi: 10.1111/ele.12095

Thomson LJ, Macfadyen S, Hoffmann AA (2010) Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. Biol Control 52:296–306 . doi: 10.1016/J.BIOCONTROL.2009.01.022

Trauer-Kizilelma U, Hilker M (2015) Impact of transgenerational immune priming on the defence of insect eggs against parasitism. Dev Comp Immunol 51:126–133 . doi: 10.1016/J.DCI.2015.03.004

Triggs AM, Knell RJ (2012) Parental diet has strong transgenerational effects on offspring immunity. Funct Ecol 26:1409–1417 . doi: 10.1111/j.1365-2435.2012.02051.x

van Baaren J, Le Lann C, van Alphen J (2010) Consequences of climate change for aphid-based multi-trophic systems. In: Kindlmann P, Dixon AFG, Michaud JP (eds) Aphid Biodiversity under Environmental Change. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 55–68 . doi: 10.1007/978-90-481-8601-3_4

Vinson SB, Iwantsch GF (1980) Host suitability for insect parasitoids. Annu Rev Entomol 25:397–419 . doi: 10.1146/annurev.en.25.010180.002145

Visser B, Ellers J (2008) Lack of lipogenesis in parasitoids: a review of physiological mechanisms and evolutionary implications. J Insect Physiol 54:1315–1322 . doi: 10.1016/J.JINSPHYS.2008.07.014

Vogelweith F, Thiéry D, Moret Y, Colin E, Motreuil S, Moreau J (2014) Defense strategies used by two sympatric vineyard moth pests. J Insect Physiol 64:54–61 . doi: 10.1016/j.jinsphys.2014.03.009

Walker M, Jones TH (2001) Relative roles of top-down and bottom-up forces in terrestrial tritrophic plant-insect herbivore-natural enemy systems. Oikos 93:177–187 . doi: 10.1034/j.1600-0706.2001.930201.x

Woestmann L, Saastamoinen M (2016) The importance of trans-generational effects in Lepidoptera. Curr Zool 62:489–499 . doi: 10.1093/cz/zow029

Ziter C, Robinson EA, Newman JA (2012) Climate change and voltinism in Californian insect pest species: sensitivity to location, scenario and climate model choice. Glob Chang Biol 18:2771–2780 . doi: 10.1111/j.1365-2486.2012.02748.x

CONCLUSIONS MAJEURES DU CHAPITRE

Incorporant un certain degré de réalisme climatique grâce au recours à la modélisation climatique, les trois manuscrits constituant ce Chapitre IV révèlent que le réchauffement climatique, au travers de ses manifestations locales en Bourgogne, est susceptible d'impacter un certain nombre de traits d'histoire de vie des chenilles et adultes d'eudémis, ainsi que la manière dont ce ravageur peut interagir avec des parasitoïdes oophages.

Manuscrit 2 : réponses des traits des chenilles

Au niveau larvaire tout d'abord, la plupart des résultats obtenus en système fluctuant viennent corroborer ceux précédemment observés avec des régimes constants (Manuscrit 1 du Chapitre III) (Fig.27). En effet, des réponses thermiques similaires ont été trouvées pour certains traits entre les deux études, permettant de conforter certaines conclusions formulées à l'issue du Chapitre III. Par exemple, les deux études s'accordent à dire que l'exposition des chenilles d'eudémis à des températures croissantes puisse induire une réduction de la durée du stade larvaire (accélération du développement), de même que des effets immunosuppressifs particulièrement visibles sur l'activité totale de la phénoloxidase.

En revanche, les résultats obtenus sur les comportements défensifs diffèrent radicalement entre les deux études, aussi bien en ce qui concerne les traits comportementaux affectés (comportements de torsion et de chute dans le Chapitre III, comportement de fuite dans le Chapitre IV) que la nature de l'effet provoqué par l'augmentation des températures (négatif dans le Chapitre III, positif dans le Chapitre IV). Cette comparaison est informative de l'incidence que peut avoir la manière de représenter le réchauffement climatique sur la plasticité des traits comportementaux chez eudémis. Cette importance du design expérimental sur les comportements défensifs pourrait s'expliquer par une combinaison d'effets thermiques de long terme (températures développementales affectant l'allocation des ressources à l'expression des comportements de défense) et de court terme (températures prévalant au moment des tests, en réponse auxquelles les chenilles peuvent rapidement ajuster leur comportement) (Abram et al., 2017; Soto-Padilla et al., 2018).

Enfin, les dosages énergétiques révèlent une diminution des réserves lipidiques dans le régime le plus chaud, pouvant résulter du raccourcissement de la durée du stade larvaire, le seul à s'alimenter chez cette espèce. Les conséquences de cette réduction du stock de lipides accumulé à la fin du développement larvaire doivent encore être appréciées, en particulier pour la reproduction des adultes.

En résumé, cette étude vient confirmer l'importante variabilité de réponses thermiques pouvant être observée entre traits d'une même espèce (Kellermann et al., 2019), dans un design basé sur une comparaison de régimes fluctuants cette fois. Ce faisant, elle suggère que l'examen de différents traits peut apporter des informations complémentaires quant aux conséquences de températures croissantes sur la physiologie individuelle et les différentes fonctions vitales prédictives de la dynamique des populations et des interactions avec les ennemis naturels. Ces résultats viennent encore un peu plus accréditer l'importance d'une approche intégrative (multi-traits) dans les études cherchant à prédire la réponse d'une espèce au réchauffement climatique.

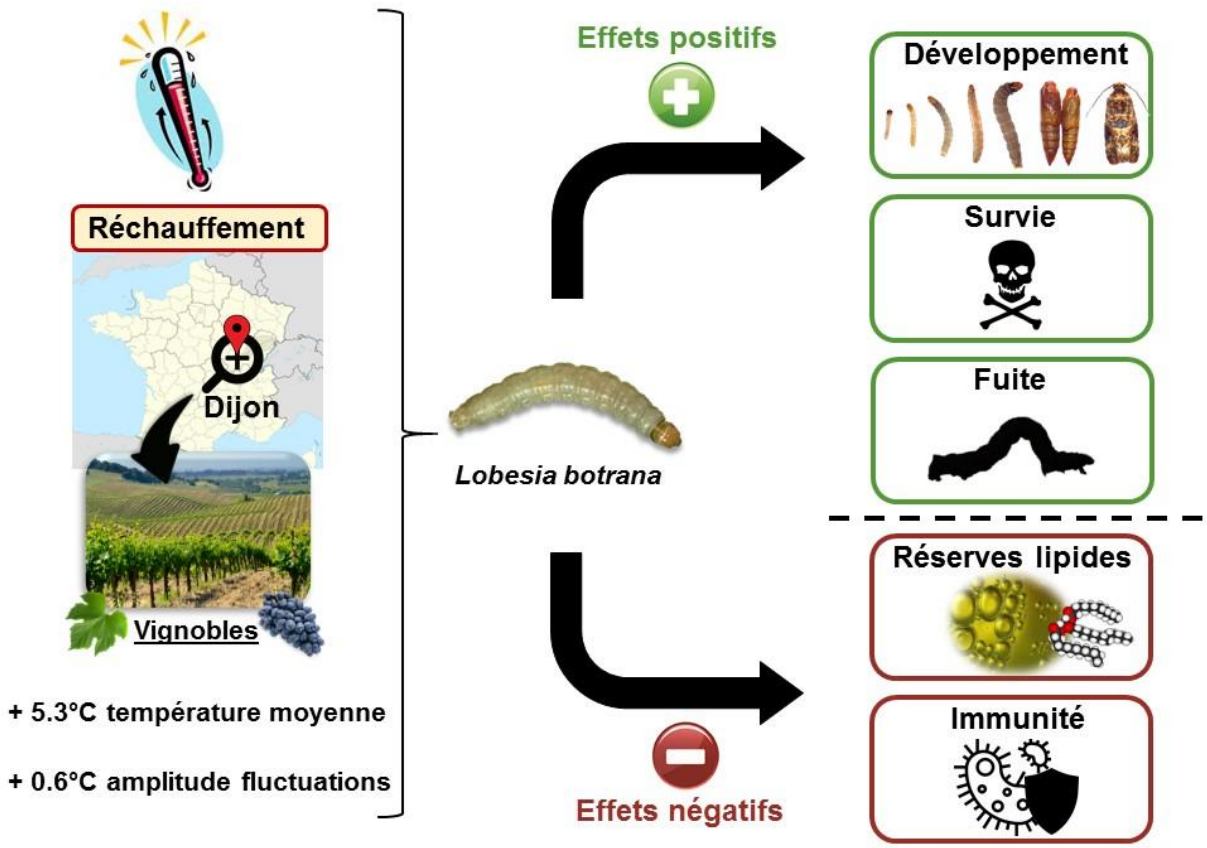


Figure 27 : *Schéma récapitulatif des principaux résultats du Manuscrit 2 du Chapitre IV. Des chenilles d'eudémis (L. botrana) ont été exposées, durant l'intégralité de leur développement, à deux régimes fluctuants représentatifs des conditions actuelles et futures dans les vignobles bourguignons (voir la section 3.2 du Chapitre II, ci-dessus). Cette imitation locale du réchauffement climatique, basée sur les projections de modèles climatiques, a consisté en une augmentation de 5.3°C de la température moyenne et de 0.6°C de l'amplitude des fluctuations thermiques journalières. Les réponses d'un large éventail de traits d'histoire de vie des chenilles à cette simulation du réchauffement ont été prises en considération. L'augmentation des températures a eu des effets bénéfiques sur certains traits (réduction de la durée du stade larvaire, augmentation de la survie jusqu'au stade adulte, augmentation de l'expression du comportement de fuite contre les ennemis naturels), négatifs sur d'autres (diminution de la teneur corporelle en lipides, effets immunosuppressifs).*

Manuscrit 3 : réponse des traits des adultes

En ce qui concerne la reproduction des adultes et la dynamique des populations du ravageur, des effets négatifs du réchauffement expérimental ont été observés sur la performance sexuelle des deux sexes, mais ne semblent pas s'expliquer par les budgets énergétiques des papillons à l'émergence, qui n'étaient pas modifiés par les températures subies au cours du développement. Par confrontation avec les résultats du Manuscrit 2 (voir paragraphe précédent), ces données suggèrent que les différences énergétiques apparentes à la fin du développement larvaire n'ont pas

persisté jusqu'au stade adulte, peut-être en lien avec les profondes modifications physiologiques survenant au cours de la métamorphose (Llandres et al., 2015; Merkey et al., 2011).

Les femelles s'étant développées dans le régime le plus chaud subissent une réduction de leur succès d'accouplement avec des mâles vierges standards, bien que la ponte ultérieure (fécondité, fertilité, taux de ponte) ne soit pas influencée par la température. Ces résultats laissent entendre que la phase précopulatoire de la reproduction (c'est-à-dire la communication phéromonale entre les femelles sexuellement réceptives et les mâles en recherche de partenaires) pourrait être perturbée par la température. Par exemple, celle-ci pourrait altérer les réactions enzymatiques participant à la synthèse des phéromones sexuelles chez les femelles, l'investissement de celles-ci dans l'expression du comportement d'appel, ou encore la composition chimique du bouquet phéromonal (Boullis et al., 2016; Konopka and McNeil, 2017). Cependant, les femelles ayant été replacées dans leur régime thermique d'origine pour la ponte après accouplement, il n'est, pour le moment, pas possible d'écarter la possibilité que la température puisse également agir durant la phase post-copulatoire, notamment sur la viabilité du sperme du mâle et sa migration dans les voies génitales de la femelle (Sales et al., 2018).

Pour les mâles, l'unique trait affecté par la température de développement est le nombre de paquets d'eupyrènes contenu à l'intérieur de l'ampoule du spermatophore. Cette métrique, directement reliée à la qualité du sperme et sa capacité à fertiliser les ovocytes des femelles, est réduite de moitié pour les mâles exposés au régime chaud. La question sous-jacente est d'estimer les conséquences de cette réduction de fertilité du mâle pour la productivité du couple en termes de larves viables. À titre d'exemple, une étude précédente a démontré qu'une réduction de 33% du nombre de paquets d'eupyrènes s'accompagnait, après accouplement, d'une diminution de la fécondité (-30%) et de la fertilité (-10%) des femelles d'eudémis (Muller et al., 2015a). Il est donc raisonnable de penser que les effets négatifs, d'ampleur relativement importante, de la température sur la fertilité des mâles risquent d'avoir des répercussions négatives non négligeables sur la production en œufs des femelles, et donc sur la dynamique d'abondance du ravageur.

En résumé, cette étude souligne la grande sensibilité d'un trait sexuel mâle à une augmentation de la température. Au vu de l'étroite relation entre la qualité du sperme du mâle et le succès reproducteur des femelles, ces résultats connotent l'importance d'intégrer le compartiment mâle comme partie intégrante de la biologie de reproduction d'eudémis afin de prédire la dynamique des populations futures de ce ravageur dans un contexte de changement climatique. Ceci permettrait sans doute d'augmenter la fiabilité des prédictions des modèles de dynamique des populations centrés sur la réponse physiologique individuelle chez cette espèce (Gutierrez et al., 2017; Muller, 2016).

Manuscrit 4 : réponse de l'interaction entre œufs hôtes et parasitoïdes oophages

Au niveau des relations interspécifiques, la simulation locale du réchauffement climatique a des effets prononcés sur deux mesures clés liées à la résultante de l'interaction entre les œufs de *L. botrana* et le parasitoïde oophage *T. cacoeciae*. Plus particulièrement, l'augmentation des températures diminue le taux d'émergence du trichogramme des œufs hôtes, mais augmente la taille des parasitoïdes parvenant à émerger. Par ailleurs, il est crucial de noter que cette modulation thermique du devenir de l'interaction semble s'être opérée exclusivement par voie indirecte. En effet, seule la température connue par la génération parentale s'accompagne d'une incidence sur l'interaction, alors que celle-ci ne répond pas à la température d'incubation des œufs hôtes (effets thermiques directs). De plus, cette conclusion se généralise aux quatre souches de trichogramme utilisées dans les expériences, attestant d'une certaine robustesse.

Il est, à ce stade, encore impossible d'identifier la cause mécanistique de la réduction du taux d'émergence du trichogramme lorsque celui-ci parasite des œufs hôtes originaires du régime chaud. Celle-ci pourrait faire intervenir une réduction de la qualité nutritive des œufs (diminution des teneurs en différentes molécules de réserves), et/ou une surexpression de leur immunité, conduisant à une résistance accrue face au parasitoïde. L'hypothèse privilégiée est celle d'une augmentation de l'immunité des œufs, puisqu'une réduction de leur qualité nutritive semble incohérente avec les résultats démontrant une augmentation de la taille corporelle des trichogrammes émergeant des œufs originaires du chaud. En effet, la quantité de substances nutritives (métabolites énergétiques) contenues dans les œufs hôtes est

susceptible d'agir sur la taille du parasitoïde à l'émergence, mais cette relation apparaît comme étant positive (Kishani Farahani et al., 2016).

En résumé, cette étude suggère, pour la première fois, le rôle que peut jouer la plasticité phénotypique transgénérationnelle dans le devenir d'une interaction hôte-parasitoïde face au changement climatique (Donelson et al., 2018). En effet, les conditions thermiques connues par la génération parentale ont affecté la résultante de l'interaction impliquant les œufs pondus par cette génération et un parasitoïde oophage, probablement via des effets sur le phénotype des œufs hôtes qui doivent encore être caractérisés.

Chapitre V

Cas des événements extrêmes : réponse des chenilles à une vague de chaleur survenant à différentes étapes du développement

CONTEXTE GÉNÉRAL DU CHAPITRE ET OBJECTIFS

Au-delà d'une altération du niveau de variabilité thermique observable à l'échelle d'une journée, incorporée dans le Chapitre IV via l'utilisation de patterns réalistes de fluctuations thermiques quotidiennes, le changement climatique va également impliquer une modification des patterns d'occurrence et de la nature des événements thermiques extrêmes. Cette facette du réchauffement peut notamment se retranscrire au travers d'une augmentation de la fréquence, de la durée et de la magnitude des vagues de chaleur, phénomènes auxquels les études en écologie accordent aujourd'hui un intérêt grandissant (Jentsch et al., 2007; Smith, 2011; Stoks et al., 2017).

Un nombre croissant de preuves expérimentales démontre qu'une exposition ponctuelle à des températures stressantes voire sublétales peut conduire à une réduction importante de la performance individuelle visible même après le retour à des conditions thermiques favorables (Chiu et al., 2015; Ma et al., 2018a). De plus, cette persistance des effets négatifs de la vague de chaleur sur la performance individuelle peut s'observer à l'échelle de plusieurs stades de vie chez les insectes, si bien qu'une exposition à un stade immature peut s'accompagner de conséquences négatives sur le potentiel de reproduction des adultes (Zhang et al., 2015a; Zhang et al., 2015b).

Toutefois, il est possible d'observer, au sein d'une même espèce d'insecte, une variabilité de réponses individuelles à une vague de chaleur, pouvant inclure une capacité à atténuer les effets négatifs sur la performance induits par l'exposition à des températures excessivement élevées (Ma et al., 2018a; Zhang et al., 2015a; Zhang et al., 2015b). Une telle variabilité de réponses est en grande partie expliquée par la dynamique temporelle de la vague de chaleur subie durant l'ontogénie de l'organisme, et, subséquemment, le(s) stade(s) de vie concerné(s) par cet événement (Chiu et al., 2015; Zhang et al., 2015a; Zhang et al., 2015b). En effet, le cycle de développement modulaire des insectes fait intervenir une succession de stades de vie aux caractéristiques morphologiques, physiologiques et comportementales parfois très dissemblables. Ces caractéristiques pourraient influencer la sensibilité de chaque stade à des conditions thermiques stressantes (Bowler and Terblanche, 2008; Klockmann et al., 2017; Ma and Ma, 2012). Par exemple, il a été attesté, chez un modèle Lépidoptère, que la variation de tolérance à un stress thermique entre stades de vie est en grande partie expliquée par des différences de taille corporelle

conditionnant étroitement l'acquisition d'une tolérance à la chaleur (Klockmann et al., 2017).

Une autre explication plausible à cette importance du stade de vie affecté dans la réponse à la vague de chaleur est celle de mécanismes compensatoires dont l'efficacité serait conditionnée par l'alimentation de manière stade-spécifique. Il est effectivement supposé qu'une augmentation de la prise alimentaire puisse par exemple survenir en tant que réponse spécifique visant à modérer les effets pernicieux d'une vague de chaleur au niveau individuel (Klockmann et al., 2017), fait qui dispose depuis peu de support expérimental (Van Dievel et al., 2017). D'un point de vue physiologique, cette importance prise par l'alimentation pourrait s'expliquer par l'acquisition de ressources nécessaires à l'expression coûteuse d'une réponse au stress thermique (production et activation de protéines chaperonnes synthétisées en réponse à un stress thermique) (King and MacRae, 2015; Krebs and Loeschcke, 1994). En revanche, aucune étude ne s'est penchée sur la manière dont le timing d'application de la vague de chaleur peut affecter l'efficacité de telles réponses compensatoires dépendantes de l'alimentation. Par exemple, le timing de la vague de chaleur risque de déterminer le temps disponible pour l'alimentation permettant l'expression de la réponse compensatoire post-stress, et donc l'efficacité de celle-ci.

L'objectif de cette étude est d'évaluer le degré de modulation exercé par l'alimentation sur la réponse des chenilles d'eudémis à une vague de chaleur de deux jours se produisant précocement (stade L2) ou tardivement (stade L4) durant le développement larvaire. L'idée sous-jacente est de tester l'hypothèse d'une importance stade-spécifique de l'alimentation dans l'expression des mécanismes compensatoires intervenant en réponse à la vague de chaleur. La capacité de réponse des chenilles à la vague de chaleur est manipulée par voie expérimentale, en faisant varier le moment auquel cet événement est appliqué durant le développement larvaire (déterminant le temps disponible pouvant être alloué à l'alimentation et à l'expression de la réponse compensatoire) et la qualité de la nourriture fournie immédiatement après la vague de chaleur (déterminant le temps requis pour qu'une compensation puisse se produire) (Fig.28). Les attendus sont les suivants :

. dans le cas d'une vague de chaleur précoce (stade L2), il est attendu que les chenilles disposent de suffisamment de temps pour s'alimenter afin d'exprimer une potentielle réponse compensatoire. Toutefois, l'efficacité de celle-ci devrait être conditionnée par

la qualité de la nourriture disponible après l'exposition au stress thermique, si bien que la magnitude de l'effet négatif sur la performance causé par la vague de chaleur devrait être beaucoup plus forte pour les individus supplémentés avec une nourriture de mauvaise qualité que ceux auxquels est proposée une nourriture de bonne qualité.

. dans le cas d'une vague de chaleur tardive (stade L4), il est supposé que le temps disponible avant la fin du développement larvaire (fin de la période durant laquelle cette espèce peut s'alimenter) ne soit pas suffisant pour permettre l'expression d'une réponse compensatoire. Ainsi, le déclin de performance induit par la vague de chaleur devrait être perceptible et de même amplitude pour les deux traitements alimentaires appliqués aux larves après la vague de chaleur.

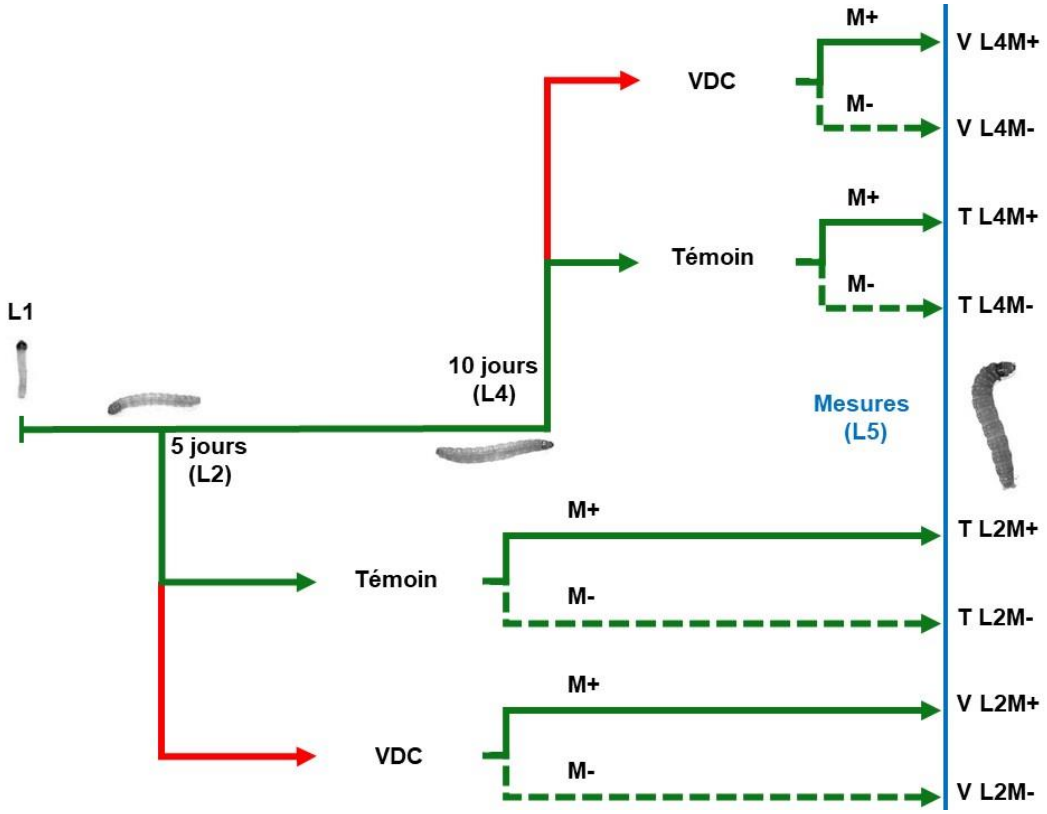


Figure 28 : *Schéma récapitulatif du design expérimental mis en œuvre dans le Manuscrit 5 du Chapitre V, avec les huit modalités résultant de la combinaison de trois facteurs expérimentaux (traitement thermique, stade larvaire, et traitement alimentaire). Des chenilles d'âge inférieur à 24 heures (L1) sont déposées dans un régime thermique « normal » (ligne verte) et alimentées avec une nourriture de bonne qualité (M+, trait plein) jusqu'à ce qu'elles soient distribuées entre plusieurs traitements expérimentaux. Les traitements thermiques sont appliqués aux chenilles âgées de 5 jours (correspondant au 2ème stade larvaire chez cette espèce, L2) ou 10 jours (4ème stade larvaire, L4). Dans les deux cas, les chenilles sont soit maintenues dans le régime thermique normal (traitement contrôle), soit exposées pendant deux jours consécutifs au régime simulant une vague de chaleur (traitement vague de chaleur = VDC, ligne rouge) avant de revenir dans le régime normal. À un âge de 7 jours (L2) ou 12 jours (L4), les individus sont distribués entre les deux traitements alimentaires : elles sont transférées dans un nouveau tube rempli avec du milieu de bonne qualité ou de faible qualité (M-, ligne en pointillés). Toutes les mesures (développement, réserves, immunité) sont conduites sur des individus âgés de 14 jours.*

MANUSCRIT 5

Does nutrition matter in the response of an herbivorous insect to a heat wave? A stage-specific approach

Corentin Iltis[a], Philippe Louâpre[a], Denis Thiéry[b], and Jérôme Moreau[a]

[a] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[b] *UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.*

Soumis à *Journal of Experimental Biology*

Does nutrition matter in the response of an herbivorous insect to a heat wave? A stage-specific approach

Running title: Food and life stage determine heat wave impacts

Corentin Iltis*[a], Philippe Louâpre[a], Denis Thiéry[b], and Jérôme Moreau[a]

[a] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[b] *UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.*

* Corresponding author. E-mail: corentin.iltis@u-bourgogne.fr. ORCID: 0000-0002-1379-8029

Key words

Climate change, energetic reserves, heat wave, immunity, larval nutrition, stage-specific effects.

Summary statement

We examined the role played by post-stress alimentation in determining the fitness consequences (development, reserves, immunity) of a heat wave occurring at different steps of an insect larval development.

Abstract

In a rapidly changing climatic context, organisms are facing the challenge of an increase in the frequency, magnitude and duration of heat waves. Most of the time, exposure to abnormally high temperatures are detrimental to individuals, but these impacts show great variation depending on the life stage being affected. To date, the proximate reasons for such timing-dependent biological impacts of heat waves are not fully understood, but could involve compensatory feeding responses whose efficiency would differ among life stages. Using caterpillars of a phytophagous insect, we developed a full factorial design to test for the importance of (i) the timing of occurrence of the heat wave during larval development and (ii) the quality of the food provided after the heat wave for the individual response in terms of development, energetic budgets and immunity. Three major conclusions can be drawn from this work. First, heat wave induced an overall decline in performance (delayed development, depressed immunity). Second, food quality primarily mediated the ability of the insect to respond to the heat stress. Indeed, the reduction of performance following heat wave application was mostly restricted to individuals having access to poorly nutritive food after the heat. Third, larval instars clearly differed in their susceptibility to the heat-driven decrease in performance, but conclusions about the life stage being the most vulnerable differed in a trait-specific manner. These findings suggest that alimentation can shape the individual response to a heat wave in a complex way depending on the life stage and the trait considered.

Introduction

Earth climate is changing at an unprecedented rate due to human activities, and this anthropogenic climate alteration is nowadays largely recognised as a major threat imperilling biodiversity, from individual survival to population persistence in space (shift in boundary ranges), time (phenological alteration), and ecosystem functioning (Bellard et al., 2012; Parmesan, 2006; Walther et al., 2002). Current climate change is a complex phenomenon that cannot simply be reduced to an overall rise in mean temperature, but also involves subtler modifications of temperature variability at different temporal scales (Easterling et al., 1997; IPCC, 2014; Meehl and Tebaldi, 2004). More specifically, a widely recognised feature of the predicted climate alterations for the coming century is the considerable increase in the frequency, the duration and the magnitude of extreme thermal events, especially heat waves (Easterling et al., 2000; Meehl and Tebaldi, 2004; Perkins et al., 2012). Although often referred to as extended periods of exposure to abnormally high temperatures, there is to date no consistent climatological definition regarding the relative or absolute temperature threshold that needs to be exceeded, the temperature metric considered (e.g. mean, daily minimum or maximum temperature) and the duration of the hot event required to identify unequivocally a heat wave (Meehl and Tebaldi, 2004; Smith et al., 2013). For instance, Smith et al. (2013) distinguished 16 indices from the previously published literature that were used to define a heat wave, thus highlighting the wide natural diversity of heat wave characteristics.

Heat waves are expected to have major ecological repercussions and to act as important drivers of future population and community dynamics, owing to their effects on almost all levels of biological organisation (Buckley and Huey, 2016; Jentsch et al., 2007; Stoks et al., 2017). As ectothermic animals, insects are particularly vulnerable to the threat posed by extreme high temperatures because of the dependence of their physiological and behavioural processes regarding environmental thermal conditions (Stoks et al., 2017). At the individual level, heat waves may thus unleash a wide diversity of biological responses, most of the time consisting of an overall reduction in individual performance, as evidenced by negative effects of a transient exposure to high temperature spikes on the survival and growth of immature stages (Chiu et al., 2015; Ma et al., 2015b; Potter et al., 2011), adult lifespan and reproductive success (Zhang et al., 2013; Zhang et al., 2015a; Zhang et al., 2015b), immunity (Fischer et al.,

2014) and fat reserves accumulation (Fischer et al., 2014). These individual responses to heat waves can cascade up through upper levels of organisation such as populations (e.g. decline in demographic rates, modification of the genetic constitution of natural populations) and communities (e.g. changes in the relative dominance of competing species, alteration of interspecific relationships) (Chiu et al., 2015; Ma et al., 2015a; Rodriguez-Trelles et al., 2013; Sentis et al., 2013).

Within a single insect species, individual responses to a heat wave can vary from a substantial decrease in several aspects of performance to the mitigation and even sometimes complete recovery from the physiological damage and fitness costs arising from exposure to high temperature (Ma et al., 2018; Zhang et al., 2015a; Zhang et al., 2015b). An important part of this variation in individual ability to cope with stressful thermal conditions can be explained by the timing at which heat wave occurs during insect ontogeny and, subsequently, the life stage being concerned by this heat event (Chiu et al., 2015; Zhang et al., 2015a; Zhang et al., 2015b). As short-living species, insects may indeed experience a heat wave extending over a whole, sometimes several, developmental stage(s). For instance, in the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), a brief larval exposure for a few hours to 40°C caused detrimental effects on adult reproduction, and the magnitude of these negative effects was increasingly greater as the heat stress occurred at a developmental stage closer to the adult stage (Zhang et al., 2015a). The modularity of insect development has been frequently proposed as a plausible explanation to the importance of the timing of heat wave occurrence in predicting the associated repercussions for individual performance (the ‘lifecycle modularity hypothesis’, Potter et al., 2011). Indeed, unlike vertebrate species that grow incrementally, the developmental schedule of insects is characterised by a discontinuous succession of growth episodes across discrete life stages, punctuated by periods of moults (Potter et al., 2011). Considering the discrepancies between insect life stages in terms of morphological, physiological and behavioural traits, it is supposed that these stages should highly differ in their vulnerability to heat. For instance, heat tolerance and acclimation have been shown to vary ontogenetically because of their relation with body size and morphology (Bowler and Terblanche, 2008; Klockmann et al., 2017; Woods, 2013). Similarly, potential to express efficient behavioural thermoregulation to avoid excessively high temperatures can be influenced by ontogenetic stage, because

insects usually become increasingly mobile as they age (Bowler and Terblanche, 2008; Ma and Ma, 2012).

From a physiological perspective, differences in heat wave impacts between life stages may also arise from their ability to compensate for the damage induced by heat through feeding (Klockmann et al., 2017; Zhang et al., 2015a). Indeed, compensatory mechanisms based on alimentation have been previously mentioned as a possible way to recover from heat injuries because of their importance for acquisition of resources to fuel physiological stress responses (Klockmann et al., 2017; Van Dievel et al., 2017; Zhang et al., 2015a). There is, to date, some recent experimental support to the hypothesis that feeding responses (e.g. increased food intake and growth rate) may specifically occur following exposure to heat wave conditions and determine the consequences of the heat wave in terms of energy storage and immunity (Van Dievel et al., 2017). Nonetheless, whether the efficiency of such feeding responses might differ across ontogenetic stages to account for the timing-dependency of heat wave impacts on individual performance remains hitherto an open, unexplored question. For instance, the efficiency of compensatory feeding in alleviating the costs caused by an exposure to a heat wave could vary in a stage-dependent fashion because physiological requirements and feeding activity should be highly variable between early and late developmental stages (Zhang et al., 2015a). Furthermore, postulating that recovering from heat stress by means of alimentation is a time-consuming process, there should be less and less time available to express feeding response as heat wave happens late during insect development.

We here propose an experimental, laboratory study to shed additional light on the possible mechanisms underlying the stage-dependent impacts of a heat wave on an herbivorous insect, with a particular focus on the role played by larval alimentation in the heat stress response. Larval ability to express compensatory feeding mechanisms after the heat wave was manipulated through variation in the life stage exposed to the heat stress (determining the time allowed to mount such a compensatory response) and variation in the nutritional quality of the food available after the heat wave (determining the time needed to regenerate from the heat damage). As a biological model, we used larvae of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae), one of the most destructive insect pests for winemaking activity in Palearctic region (Thiéry et al., 2018). This species can be

considered as an ideal candidate to explore the importance of compensatory responses to heat wave based on alimentation because, as a capital breeder, its feeding activity is restricted to caterpillars (Thiéry and Moreau, 2005). As a consequence, the larval stage represents the unique opportunity to repair through feeding the physiological damage induced by a heat exposure, and the nutritional value of the food ingested should primarily determine the possibility for an adapted compensatory response to take place. We adopted an overall approach of larval performance by including biochemical measurements of the body amounts of four major energetic compounds and examination of the levels of different immune effectors known to play a key role in the abilities of caterpillars to combat parasitic infection (Iltis et al., 2019).

We expect complex patterns of response to heat wave conditions, depending on the combination of larval instar being affected and the quality of the nutritional diet being provided after the heat wave application. If heat wave occurs relatively early during larval development (i.e. affecting young larvae), then we hypothesise that the caterpillars should have enough time available to fully or partially recover from the heat injuries, especially if they have access to high quality food. Subsequently, the impacts of the heat wave on larval performance should display a lower magnitude (or even become insignificant) for larvae fed with high quality diet after the heat wave than those provisioned with a low quality diet, because the former should express much more efficient compensatory feeding response than the latter. Inversely, if heat wave is delayed to a more advanced stage of larval development (i.e. affecting larvae closer to pupation), we postulate that caterpillars should not dispose of a sufficient amount of time to compensate for the heat damage through feeding, irrespective of the quality of the food provided after the heat wave. Hence, the impacts of the heat wave on larval performance should be evident in any case and display the same magnitude for high quality and low quality nutritional diets.

Material and methods

General design

This study was conducted to assess the role played by larval alimentation in determining the individual response to a heat wave occurring at different larval stages. For this purpose, it compared the performance of caterpillars being continuously reared in normal thermal conditions to caterpillars temporarily exposed to a heat wave, and manipulated both the stage at which heat wave occurred during larval development and the nutritional quality of the food available after the heat wave. Hence, this work was based on a full factorial design with eight experimental blocks resulting from the combination of three factors of two levels each: thermal treatment, larval stage and food treatment (Fig. 1). Thermal treatment involved two levels referred to as control (if larvae were not exposed to a heat wave and therefore reared in normal thermal conditions throughout the experiments) and heat wave (if larvae experienced a heat wave for two consecutive days at a particular step of their development). Heat wave was simulated through an increase in 5°C in mean temperature by comparison with normal thermal conditions, during two successive days (see the subsection 'Thermal regimes' below). Larval stage was defined by the step of larval development at which thermal and food treatments were applied to caterpillars, and was comprised of two levels (L2 = second instar or L4 = fourth instar). Food treatment referred to the nutritional quality of the diet whose caterpillars were supplied with at a given larval stage, and involved two levels (AM = augmented medium with high nutritional quality, DM = depleted medium with low nutritional quality). Poorly nutritive diet (i.e. depleted medium) differed from highly nutritive one (i.e. augmented medium) by a decrease in 50% in plant material (see the subsection 'Larval stage and food treatment' below).

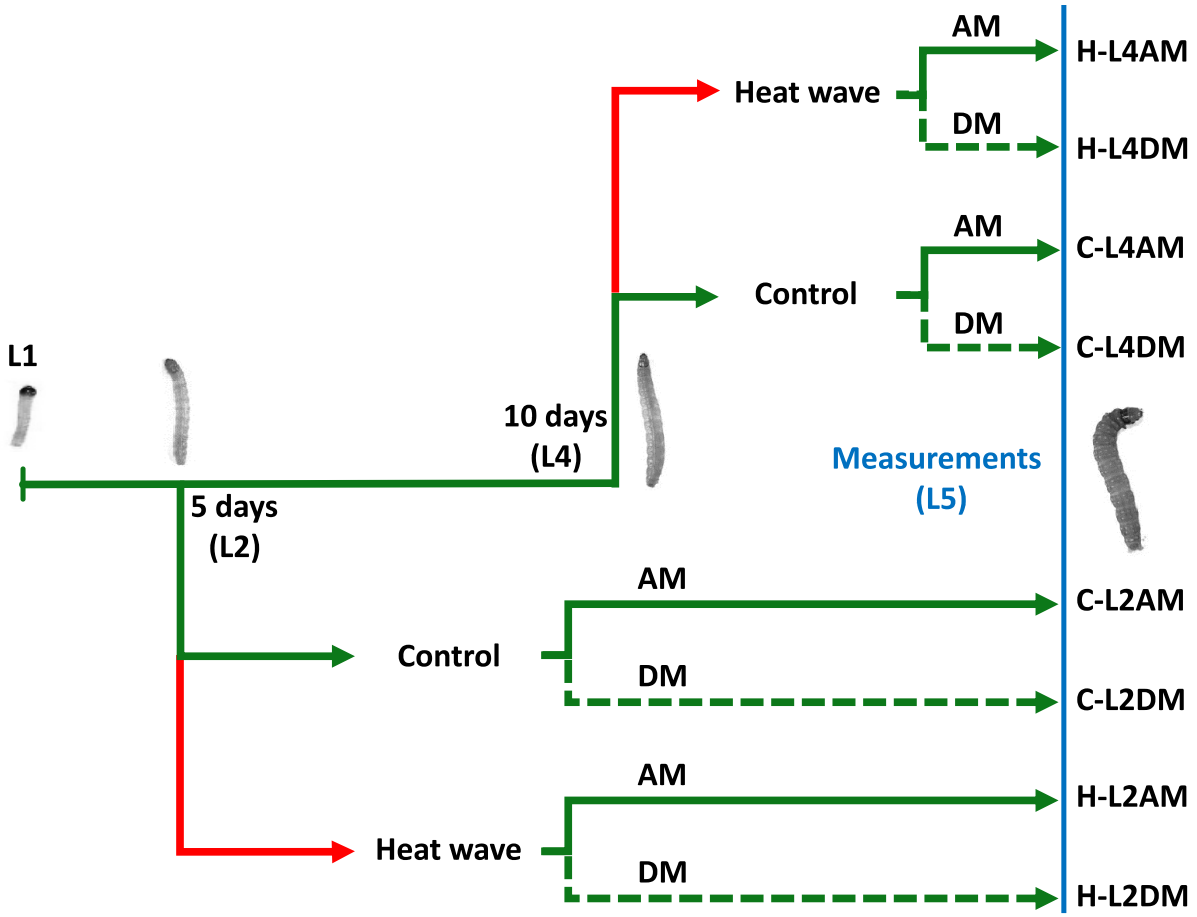


Figure 1: General design of the experiment with the eight experimental blocks resulting from the combination of thermal treatment (control versus heat wave), larval stage (L2 versus L4) and food treatment (augmented medium versus depleted medium). First instar larvae (L1, age < 1 day) were placed in the normal thermal regime (green) and fed with augmented medium (AM, solid line) until they were split between the different treatments. At a larval age of 5 days (corresponding to second larval instar, L2) or 10 days (fourth larval instar, L4), they were either held in the normal regime (control thermal treatment) or temporarily exposed to the heat wave regime (red line) for two days before returning to the normal regime (heat wave treatment). Subsequently, at a larval age of 7 days (L2) or 12 days (L4), all individuals were placed in the normal regime, changed from rearing tube and supplied with either augmented medium or depleted medium (DM, dashed line) until measurements. All measurements were carried out at a larval age of 14 days (corresponding to fifth and last larval instar, L5).

Insect stock and rearing methods

This study was conducted with an inbred, experimental line of *L. botrana* maintained without diapause on a semi-artificial diet (recipe below) under standard controlled conditions (temperature: 20 ± 0.5°C, relative humidity: 60 ± 5%, photoperiod: L17:D6 and one hour of dusk, luminosity: 600 lx during photophase and 100 lx at dusk). All the individuals used in the experiments originated from an important stock colony, comprised of high densities of adults (several thousands of caged moths per week) and supplemented annually with wild individuals sampled in nearby vineyards (cultivar Semillon) to enhance genetic diversity. In this regard, larvae of this laboratory stock have been shown to display similar patterns of investment in basal immunity and ability to respond to a bacterial infection compared with field-collected individuals (Vogelweith et al., 2014). Three bands of waxed paper (5 x 10 cm) were hung inside the rearing cage to offer oviposition supports for mated females. Once covered with eggs (every 3 days), these papers were renewed and placed in plastic boxes under a moist piece of paper towel to protect eggs from desiccation until hatching.

During a one-month period, a total of 2843 larvae were continuously collected from the insect colony. Throughout the experiments, these individuals were regularly and randomly assigned to one of the eight combinations of thermal treatment, larval stage and food treatment constituting the full factorial design of this study (Fig. 1). Using a fine paintbrush, freshly hatched larvae (age < 24h) were delicately transferred from oviposition papers to Eppendorf tubes filled with 1.5 ml of rearing medium whose recipe was developed from Thiéry and Moreau (2005) (composition for 1000 ml: 1000 ml water, 15 g agar, 86.6 g maize flour, 41.3 g wheat germ, 45.5 g beer yeast, 6 g ascorbic acid, 3.4 g mineral salt, 0.32 g Scala, 2.7 g benzoic acid, 2.8 g Nipagin and 5 ml 95% ethanol). Hereafter, this nutritional diet will be referred to as the augmented medium considering its high nutritive value for *L. botrana* caterpillars. Indeed, individuals belonging to the laboratory strain used in this study exhibit a relatively high larval and adult performance when reared on the augmented medium compared with semi-synthetic food derived from plant material (grapevine or alternative hosts) (Moreau et al., 2006; Moreau et al., 2007; Muller et al., 2015; Thiéry and Moreau, 2005; Vogelweith et al., 2011). Feeding freshly collected larvae with augmented medium was a way to limit larval mortality and possible artificial selection on one side, and to ensure that individuals assigned to the heat wave treatment were in good conditions before

being subjected to the heat wave on the other side. Caterpillars were raised individually in Eppendorf tubes such that no bias attributable to larval intraspecific competition for food could have occurred (Thiéry et al., 2014). Tube lids were pierced and covered with a square of fine mesh fabric to allow air circulation while preventing larvae from escaping. Once deposited in their rearing tube, all larvae were immediately transferred to the normal thermal regime described below. Thermal regimes were run within climate chambers (ST 2/2 BASIC, Pol-Eko Aparatura, Wodzisław Śląski, Silesia, Poland). Abiotic conditions inside these devices were controlled (temperature ± 0.1°C, 50 ± 10% relative humidity, L18: D6, 650 lx). Temperatures were checked once a week with independent data loggers (Hobo, Onset Computer Corporation, Bourne, Massachusetts, USA) to ensure they conformed to the daily thermal cycle programmed during the entire experiments.

Thermal regimes

As a first step, all individuals used in the experiments (i.e. both the larvae assigned to the control and the heat wave treatment) were placed in the normal thermal regime immediately after their collection. This daily fluctuating temperature regime simulated a mean summer day (i.e. a 'normal' day during the period ranging from 15th July to 15th August) likely to be observed in Burgundy (Eastern France, 47,27°N; 5,09°E; altitude = 219 m) by the end of the century (2081-2100 period). It focused on summer period because *L. botrana* naturally displays high levels of activity (as evidenced by one peak of adult emergence) over this date range (Barnay et al., 2001; Martín-Vertedor et al., 2010). To conceive the normal regime, we selected the 'worst case' scenario of greenhouse gas emissions, namely the most pessimistic of the Representative Concentration Pathways scenarios (RCP 8.5), which predicts the highest positive radiative forcing associated with massive and growing emissions of greenhouse gas (www.drias-climat.fr). The normal regime was designed according to the climate predictions provided by six combinations of climate models (for more details, see Iltis et al., 2019). It was constituted by a daily thermal cycle comprised of six segments of temperature (each lasting 4 h): 21.4, 22.9, 27.8, 30.5, 28.3 and 24.2°C. It included a photoperiod of L16:D8 to reproduce natural day and night durations during summertime. Scotophase occurred during the coolest temperature segments: 21.4°C and 22.9°C.

Individuals randomly chosen to undergo the heat wave treatment were transferred from incubators programming the normal regime to incubators running the heat wave regime at 1.00 p.m. and maintained in the heat wave regime for 48 h precisely, after which they returned to the normal regime. The heat wave regime was built by translating the normal regime according to a +5°C increment in mean temperature (i.e. a constant increase of 5°C over all temperature segments). Hence, the heat wave regime was constituted by the following temperature segments: 26.4, 27.9, 32.8, 35.5, 33.3 and 29.2°C. Just as the normal regime, the photoperiod of the heat wave regime was L16:D8 and lights were switched off during the coolest temperature segments (26.4°C and 27.9°C). Our experimental simulation of a heat wave matches previously used definition of an extreme heat event, taking into account both climatological and ecological aspects. From a climatological perspective, it complies with the definition provided by Tan et al. (2006), namely a period of at least one day whose daily maximum temperature exceeds 35°C. From an ecological perspective, the heat wave regime included temperatures exceeding by more than 5°C the thermal optimum for several functions in *L. botrana* caterpillars, such as development (28-30°C) and survival (20-25°C), thus highlighting the stressful nature of these extreme thermal conditions and their important repercussions on *L. botrana* larvae (Gutierrez et al., 2012). Furthermore, a 5°C difference in mean temperature between normal and heat wave regimes has been previously interpreted as a relevant way to mimic heat wave conditions in ecological studies conducted on insect species (Beetge and Krüger, 2019; Chiu et al., 2015). Provided that *L. botrana* caterpillars require on average 17-18 days to complete all their five larval instars within the normal regime (Iltis et al., 2019), the duration of exposure to the heat wave regime was set at two days for two main reasons. The first was to maximise the age difference between ‘young’ (second instar) and ‘old’ larvae (fourth instar) at time of heat wave application while avoiding temporal overlap in the exposure to the heat wave between these two groups of larval age. The second reason was to avoid measurements on larvae that had initiated pupation after the heat wave occurrence, because *L. botrana* larvae may respond to an environmental stress by accelerating their development and reaching earlier pupation (Vogelweith et al., 2013a).

Larval stage and food treatment

Caterpillars were subjected to heat wave conditions at two distinct larval ages: 5 days, corresponding to the second larval instar (L2), or 10 days, corresponding to the fourth larval instar (L4). We did not use larvae at an earlier nor at a later developmental stage, because too young larvae were unlikely to survive the heat, while for too old ones delaying heat wave and subsequent measurements should have resulted in high percentages of individuals excluded from the experiments due to pupation. Once the heat wave ended (i.e. at 7 days after initial collection for L2 or 12 days after initial collection for L4), larvae were gently manipulated with a fine paintbrush to be extracted from their rearing tube and placed into a new tube filled with either augmented medium (AM) as a high nutritional quality diet or depleted medium (DM) as a low nutritional quality diet. Depleted medium recipe was elaborated according to a previous work (Thiéry and Moreau, 2005) and was defined by a 50% decrease in the quantity of plant material (maize flour and wheat germ) compared with augmented medium (composition for 1000 ml: 1000 ml water, 15 g agar, 43.3 g maize flour, 20.6 g wheat germ, 45.5 g beer yeast, 6 g ascorbic acid, 3.4 g mineral salt, 0.32 g Scala, 2.7 g benzoic acid, 2.8 g Nipagin and 5 ml 95% ethanol). Such a reduction in diet nutritional value is known to severely depress *L. botrana* larval performance (Moreau et al., 2006; Thiéry and Moreau, 2005). In order to standardise the stress associated with manipulation, all larvae were transferred to a new Eppendorf tube – either at 7 or 12 days – including individuals that did not change from thermal regime (i.e. individuals maintained in the normal thermal regime all along the experiments) and those that did not experience a shift in diet quality (i.e. individuals raised on augmented medium all along the experiments). Moreover, this procedure allowed us to obtain a full factorial design such that the effect of the heat wave relative to the control can be quantified for all the four modalities of larval stage and food treatment.

General procedure for measurements

All energetic and immune measurements were conducted at a larval age of 14 days after initial collection, corresponding to the fifth and last larval instar in this species. For a standardisation purpose, individuals displaying a too advanced developmental stage (larvae starting to pupate) were discarded for subsequent measurements. As a measure of development, the percentage of individuals removed from the experiments following the above selection procedure (i.e. pupation rate at 14 days) was calculated

for each of the eight combinations of thermal treatment, larval stage and food treatment. Furthermore, larval survival until measurements was overall very high and relatively constant (90-96%) across these eight combinations. At time of measurements, larvae were randomly distributed among two experimental groups, because the energetic and immune traits could not have been measured on the same individuals. In Group 1, larvae were flash-frozen and thereafter their energetic budgets were quantified through colorimetric assays. In Group 2, haemolymph collection was realised to assess the levels of different immune parameters as a surrogate for larval immunocompetence.

Group 1: Energetic reserves

Quantification of energetic budgets were performed for a total of 327 individuals: 162 larvae assigned to the control thermal treatment (*n* = 43 for L2AM, *n* = 45 for L2DM, *n* = 37 for L4AM, *n* = 37 for L4DM) and 165 larvae assigned to the heat wave treatment (*n* = 41 for L2AM, *n* = 42 for L2DM, *n* = 33 for L4AM, *n* = 49 for L4DM). Fourteen days old caterpillars were placed in empty Eppendorf tubes and instantaneously frozen by immersion in liquid nitrogen. These samples were kept at – 80°C until the energetic assays were run. Larvae were weighed with a microbalance (Quintix 35-15, Sartorius, Göttingen, Lower Saxony, Germany) to obtain fresh body mass (± 0.1 mg), before being crushed with stainless steel beads (tubes shaken for 90 s at 25 Hz) in 180 µl of aqueous lysis buffer solution (composition: 100 mM KH_2PO_4, 1 mM dithiothreitol DTT, 1 mM ethylenediaminetetraacetic EDTA, pH = 7.4). Uncovering the energetic budgets of caterpillars was done by estimating the body amounts of the four major energetic compartments in insects (proteins, lipids, soluble carbohydrates and glycogen) through spectrophotometric methods (for a detailed description of these methods, see Iltis et al., 2019). For proteins, a Bradford approach involving a DC Protein Assay kit (Bio-Rad, Hercules, California, USA) was used. For the three other energetic compounds, biochemical measurements were based on the protocol developed by Foray et al. (2012), which has been successfully employed to evaluate the energetic state of *L. botrana* caterpillars in a recent work (Iltis et al., 2019). Absorbance readings were carried out at room temperature in a microplate reader (Versamax, Molecular Devices, San Jose, California, USA), with the SOFT-Max Pro 4.0 software (Molecular Devices, San Jose, California, USA). Proteins and lipids measurements involved two replicates, and individuals whose coefficient of variation calculated over these two values

exceeded 30% were excluded from the experiments (Iltis et al., 2019). Measurements displayed a high repeatability overall, as suggested by the low percentages of individuals removed from the proteins dataset (1/327 = 0.3%) and the lipids dataset (17/327 = 5.2%).

Group 2: Immune parameters

Haemolymph samplings were performed on a total of 314 larvae: 161 individuals assigned to the control thermal treatment (*n* = 43 for L2AM, *n* = 45 for L2DM, *n* = 35 for L4AM, *n* = 38 for L4DM), and 153 individuals assigned to the heat wave treatment (*n* = 38 for L2AM, *n* = 37 for L2DM, *n* = 32 for L4AM, *n* = 46 for L4DM). Immunological assays were focused on two immune effectors – haemocyte load and activity of the phenoloxidase/prophenoloxidase system – known to play a key role in the reaction expressed by larval hosts against parasitic infection in context of host-parasitoid interactions (Carton et al., 2008; Poyet et al., 2013). On one hand, encapsulation of parasitoid immature stages is ensured by an appropriated cellular response involving recruitment of haemocytes (immune cells of invertebrates) and their binding to the foreign invader responsible for the infection (Lavine and Strand, 2002). On the other hand, the parasitoid eggs or larvae are killed and sequestered through a melanotic response triggered by the phenoloxidase enzyme (PO), which is produced from its inactive precursor – the prophenoloxidase (PPO) – stored in the haemocytes and the haemolymph (Cerenius and Soderhall, 2004; González-Santoyo and Córdoba-Aguilar, 2012). Immune parameters were assayed without preliminary bacterial challenge, because *L. botrana* caterpillars naturally display high levels of baseline immunity whilst not significantly elevating their immunity in response to an infection (Vogelweith et al., 2014).

Larvae were chilled on ice for 30 min to facilitate manipulation, before being photographed using a stereomicroscope at 12.5x magnification (Stemi 508, Zeiss, Oberkochen, Bade-Wurtemberg, Germany). These photographic data were subsequently analysed with the ZEN imaging software (version 2.3, Zeiss, Oberkochen, Bade-Wurtemberg, Germany) to measure the distance between the most distant lateral sides of the head capsule (precision: ± 1 µm) as a proxy of individual body size to control for potential allometric effects on larval immunity (Vogelweith et al., 2013b). For this experimental group, larval body size was measured rather than larval body mass because alive caterpillars – particularly fifth instar larvae – are

particularly active when manipulated and difficult to accurately weight (Muller et al., 2015). Following acquisition of photographic data, caterpillars were placed on a cold surface and pricked in the dorsal part of the abdomen to collect a 1 µl sample of haemolymph with a cold sterile glass capillary (Hirschmann Laborgeräte, Eberstadt, Bade-Wurtemberg, Germany). This sample was mixed with 20 µl of cold phosphate-buffered saline (PBS, 8.74 g NaCl, 1.78 g Na_2HPO_4, 1000 ml distilled water, pH 6.5). A volume of 10 µl of this solution was pipetted into a Neubauer improved haemocytometer placed under a phase contrast microscope at 400x magnification (Primo Star, Zeiss, Oberkochen, Bade-Wurtemberg, Germany) in order to evaluate haemocyte load. The remaining 11 µl of diluted haemolymph samples were supplemented with 10 µl of filtered PBS, flash-frozen in liquid nitrogen and stored at –80°C for later measurements of PO/PPO system activity.

The enzymatic activity of PO and PPO was extrapolated spectrophotometrically following the method described by Vogelweith et al. (2011). A clear distinction was made between the activity of the functional PO naturally present in the haemolymph sample (PO activity), and the potential activity of the whole PO/PPO system, that is, the activity of both functional PO and proenzymes stock (total PO activity). Determination of total PO activity required transformation of PPO into PO by means of chymotrypsin addition. Frozen samples were put on ice until complete thaw and centrifuged (4000 *g*, 15 min, 4°C) before 2 x 5 µl of supernatant were pipetted to microplate wells. One of these two subsamples was mixed with 160 µl of diluted PBS solution (35 ml ultrapure water, 5 ml filtered PBS) for measurement of PO activity, while the other was supplemented with 160 µl of chymotrypsin solution (35 ml ultrapure water, 5 ml filtered PBS, 2.45 mg trypsin) for measurement of total PO activity. Finally, 20 µl of L-Dopa solution (40 ml ultrapure water, 160 mg L-Dopamine) were deposited in each well as a colorimetric substrate. The enzymatic reaction was allowed to proceed at 30°C for 40 min in a microplate reader (Versamax, Molecular Devices, San Jose, California, USA). Absorbance readings were taken every 15 s at 490 nm. Absorbance curves were subsequently analysed with the SOFT-Max Pro 4.0 software (Versamax, Molecular Devices, San Jose, California, USA) to extract the maximum enzymatic activity V_{max} (the maximum speed of conversion of L-Dopamine into dopamochrome). This value was calculated as the maximum slope of the absorbance curve during the starting linear phase of the reaction. All immune measurements were

reported to 1 µl of pure haemolymph. All chemicals and reagents required involved in this study were supplied by Sigma-Aldrich Corporation (Saint-Louis, Missouri, USA), Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, USA) and VWR International (Radnor, Pennsylvania, USA). All applicable international, national and institutional guidelines for the care and use of animals were followed.

Statistical analyses

Since our aim was to evaluate the way the quality of the food provided post-stress may shape the individual response to a heat wave occurring at different steps of larval development, we merged the larval stage and food treatment into one variable with four modalities (L2AM, L2DM, L4AM, or L4DM) for the purpose of statistical analyses. Indeed, the larval stage corresponds to the developmental stage at which caterpillars were manipulated to be assigned to thermal and food treatments, and its potential simple effect on larval performance does not have much biological significance to be analysed as an individual factor. Therefore, in all the statistical tests realised, models involved the simple effects of thermal treatment (control or heat wave), the combination of larval stage and food treatment, and the interaction between thermal treatment and stage/food combination. In addition, one covariate was included in the models to control for potential allometric effects on energetic reserves (larval body mass) or immune parameters (larval body size). Pupation rate at 14 days was compared among groups using a Generalised Linear Model (GLM) with binomial error structure coupled with a logit link function. The body amounts of the four energetic compounds (proteins, lipids, soluble carbohydrates, glycogen) were normally distributed and satisfied the assumption of homoscedasticity (homogeneity of variances) among thermal treatments and couples of larval stage and food treatment. Hence, all these data were studied with analyses of covariance (ANCOVAs). For all the three immune parameters included in the study (haemocyte load, PO and total PO activities), data were not normally distributed and were best fitted by GLMs with Gamma error structure and a log link function. To tease out significant differences among groups, Cohen's *d* (or Cohen's *h* in case of data expressed in percentages: pupation rate) with their bootstrapped confidence intervals ($CI_{95\%}$, 10 000 iterations) were calculated and reported (Nakagawa and Cuthill, 2007). Congruently with our initial goal, these standardised measures of effect size allowed us (i) to quantify the overall effect of the heat wave on larval performance and (ii) to assess how the timing at which this hot

event occurred (larval stage) combined with the quality of the food available for recovery (nutritional diet) might influence the importance of the heat wave effect. All statistical analyses were carried out using the R 3.6.1 software.

Results

Pupation rate

Pupation rate at 14 days was impacted by thermal treatment (GLM binomial error structure: χ_1^2 = 5.71, *P* = 0.02) and the combination of larval stage and food treatment (χ_3^2 = 32.0, *P* < 0.001), but not by the interaction between thermal treatment and stage/food combination (χ_3^2 = 6.19, *P* = 0.10). The simple effect of thermal treatment indicates that the heat wave delayed the development of *L. botrana* larvae: the pupation rate at 14 days after egg hatching was overall higher for individuals constantly held in the normal regime than for individuals experiencing the heat wave (Fig. 2) (Cohen's *h* = 0.090, $CI_{95\%}$ = [0.016; 0.164]). Interestingly, this detrimental effect of the heat wave on larval development was only apparent for one level of stage/food combination: L4DM (Fig. 3). This indicates that the heat wave delayed development mostly if it occurred late during larval development and if individuals were subsequently provisioned with low quality food. The simple effect of stage/food combination on pupation rate at 14 days was mainly driven by food treatment: individuals kept on high quality food developed faster (displayed a higher pupation rate at 14 days after egg hatching) than those transferred to low quality food at any larval stage (Fig. 2) (Cohen's *h* = 0.189, $CI_{95\%}$ = [0.116; 0.263]).

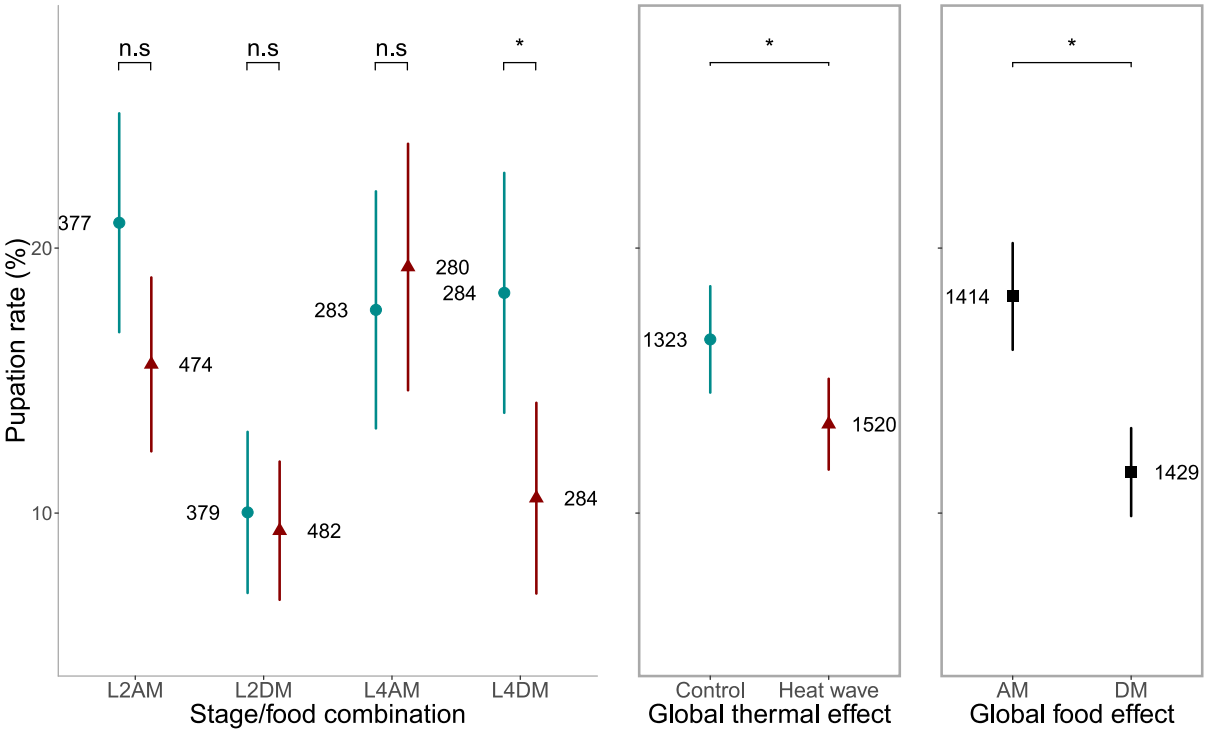


Figure 2: Responses of pupation rate to the thermal treatment (blue circles: control, red triangles: heat wave) and the stage/food combination (defined by the larval stage at which caterpillars were changed from rearing tube and the nutritional quality of the food provided after tube change), to the global effect of thermal treatment alone, and to the global effect of food treatment alone. Represented values are means ± 95% c.i. Asterisks indicate significant difference (Cohen's *h* significantly different from zero), n.s means non-significant, and numbers refer to sample sizes. Data were analysed using GLM with binomial error structure.

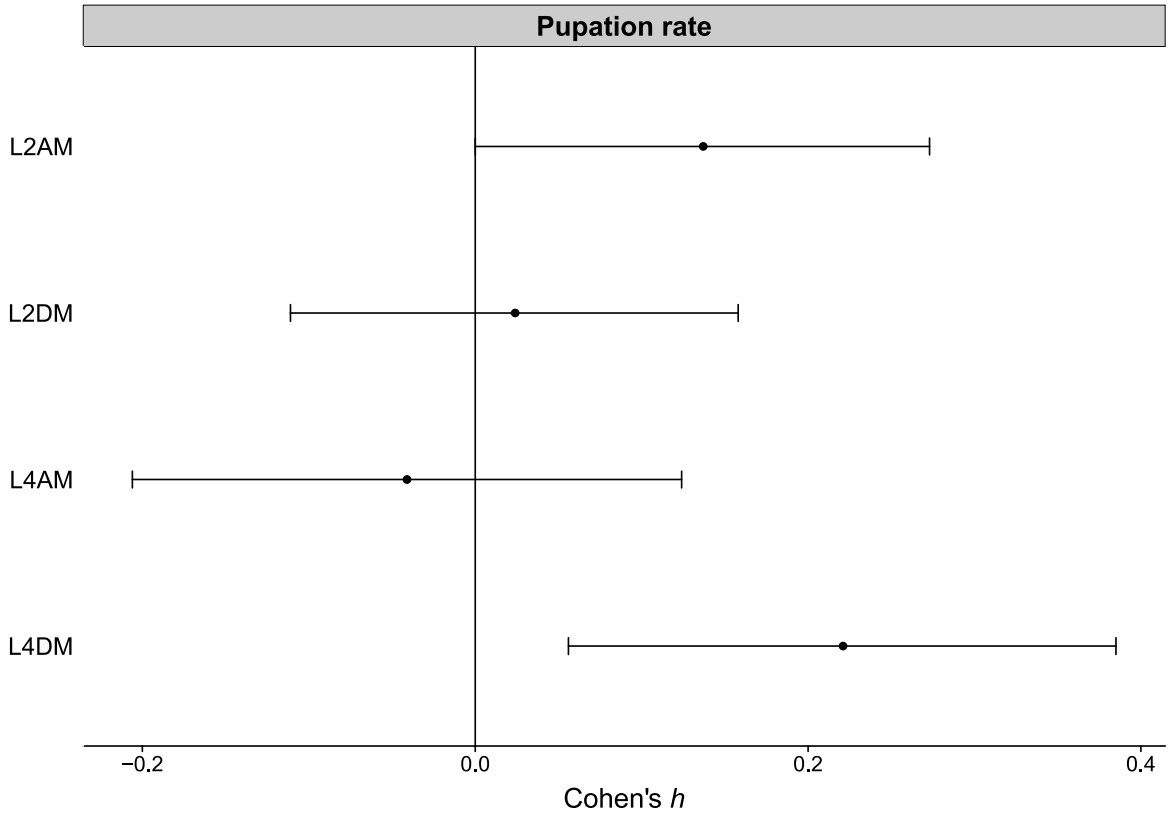


Figure 3: Cohen's *h* and their 95% bootstrapped confidence intervals (10 000 iterations) reflecting the effect size of thermal treatment (control versus heat wave) on pupation rate for each of the four modalities of stage/food combination (defined by the larval stage at which caterpillars were changed from rearing tube and the nutritional quality of the food provided after tube change). Effect size is considered as significantly different from zero when the associated confidence interval does not bracket the zero value.

Group 1: Energetic reserves

The body levels of the four energetic compounds displayed similar patterns of response to the different variables included in the models: they were affected by the combination of larval stage and food treatment, but not by thermal treatment or by the interaction between thermal treatment and stage/food combination (Table 1). The effect of stage/food combination on reserves was explained by food treatment: individuals provided with high quality medium all along their development possessed higher body amounts of proteins, lipids, soluble carbohydrates and glycogen than individuals fed with low quality food at any larval stage (Fig. 4, 5). Cohen's *d* values remain in accordance with these statistical conclusions drawn when comparing high quality versus low quality food treatments (proteins: $d = 0.484$, $CI_{95\%} = [0.267; 0.713]$; lipids: $d = 0.421$, $CI_{95\%} = [0.203; 0.649]$; soluble carbohydrates: $d = 0.456$, $CI_{95\%} = [0.234; 0.692]$; glycogen: $d = 0.590$, $CI_{95\%} = [0.370; 0.820]$). Measures of effect size did not indicate a difference in energetic reserves between control and heat wave treatments for any of the four levels of stage/food combination (Fig. 6). For all the energetic compounds examined, the body amounts were positively influenced by larval body mass: heavier caterpillars possessed higher reserves than lighter ones (Table 1) (slope values ± s.e.m., proteins: 67.2 ± 3.6; lipids: 42.2 ± 3.0; soluble carbohydrates: 6.8 ± 0.8; glycogen: 16.0 ± 0.9).

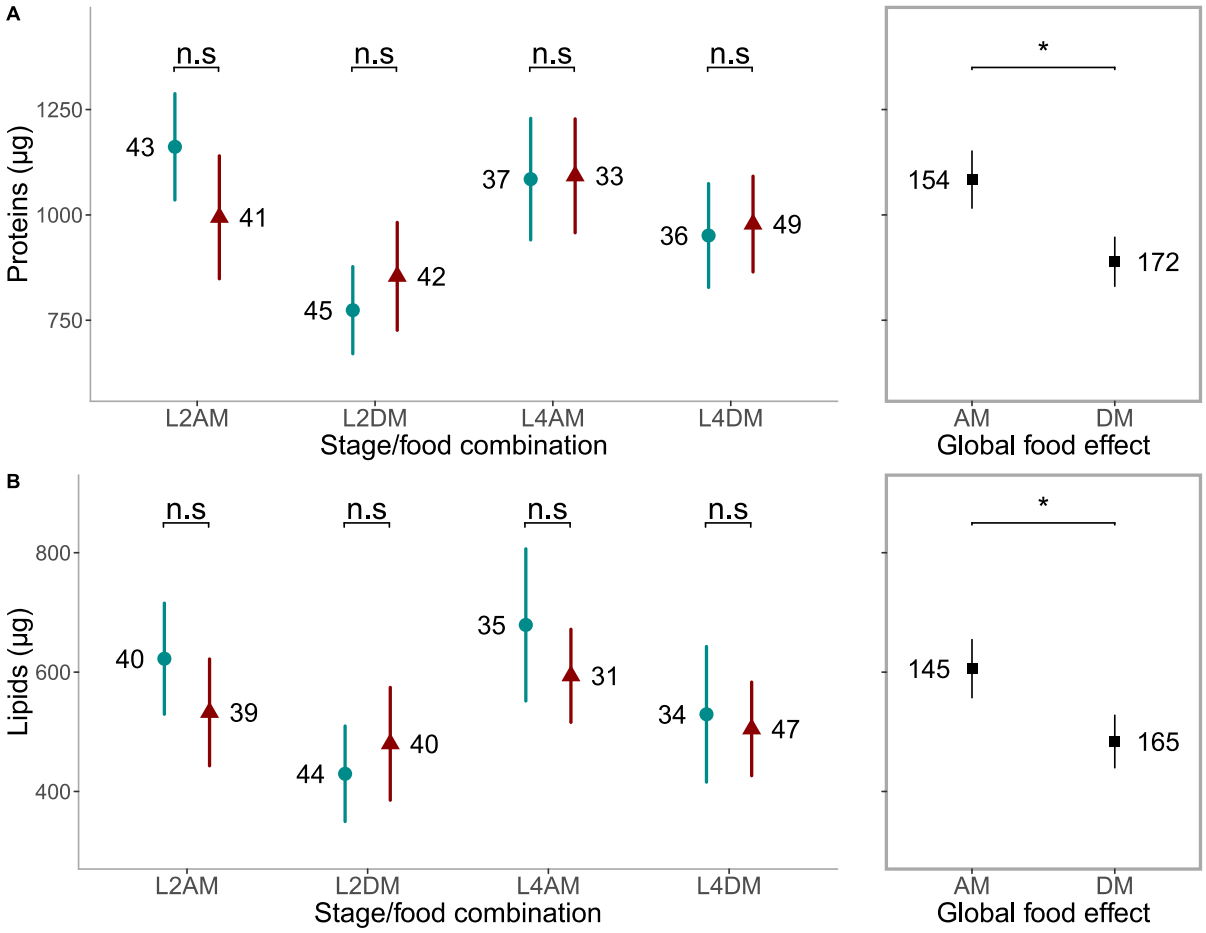


Figure 4: Responses of the total body amounts of proteins (A) and lipids (B) to the thermal treatment (blue circles: control, red triangles: heat wave) and stage/food combination (defined by the larval stage at which caterpillars were changed from rearing tube and the nutritional quality of the food provided after tube change), and to the global effect of food treatment alone. Represented values are means ± 95% c.i. Asterisks indicate significant difference (Cohen's *d* significantly different from zero), n.s means non-significant, and numbers refer to sample sizes. Data were analysed with ANCOVAs integrating larval body mass as a single covariate.

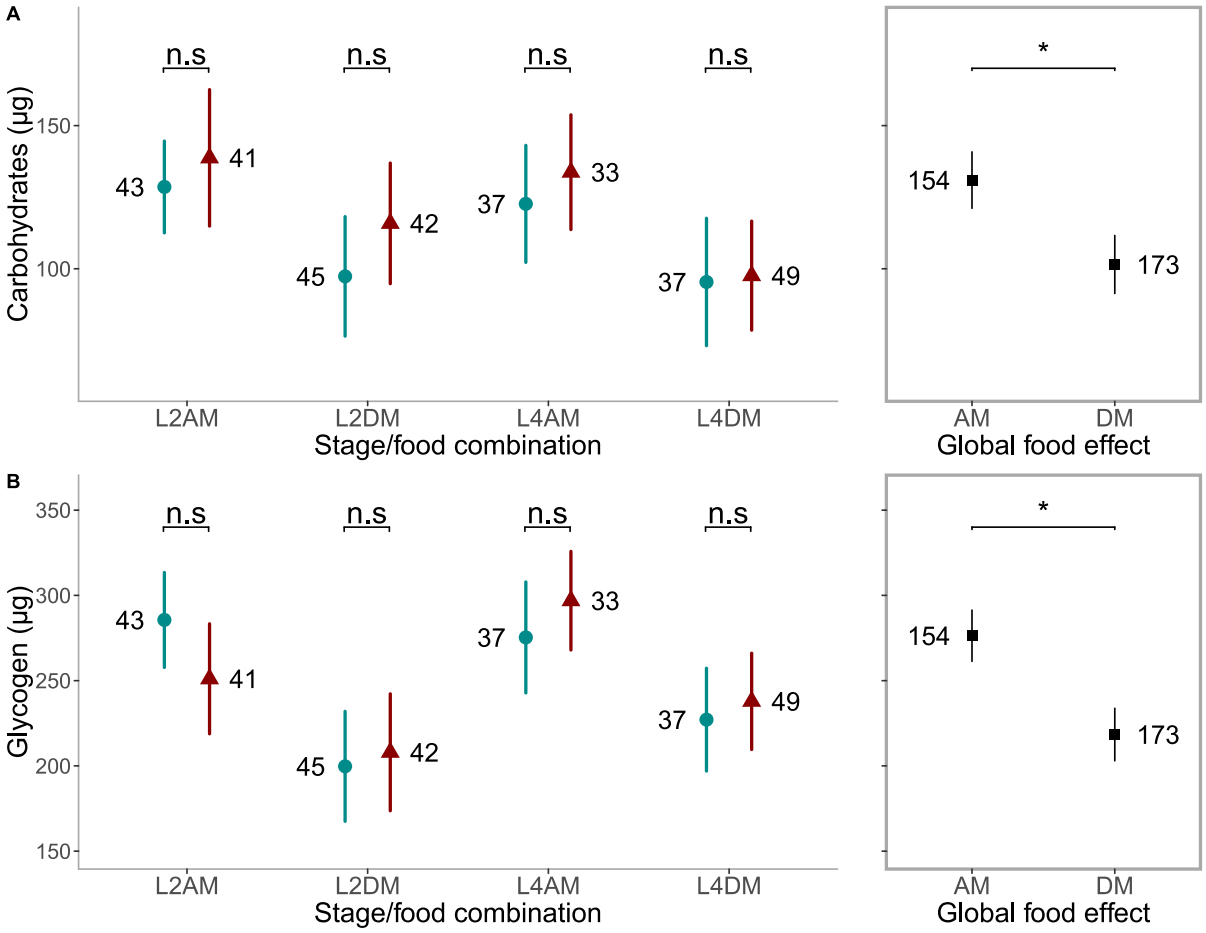


Figure 5: Responses of the total body amounts of soluble carbohydrates (A) and glycogen (B) to the thermal treatment (blue circles: control, red triangles: heat wave) and stage/food combination (defined by the larval stage at which caterpillars were changed from rearing tube and the nutritional quality of the food provided after tube change), and to the global effect of food treatment alone. Represented values are means ± 95% c.i. Asterisks indicate significant difference (Cohen's *d* significantly different from zero), n.s means non-significant, and numbers refer to sample sizes. Data were analysed with ANCOVAs integrating larval body mass as a single covariate.

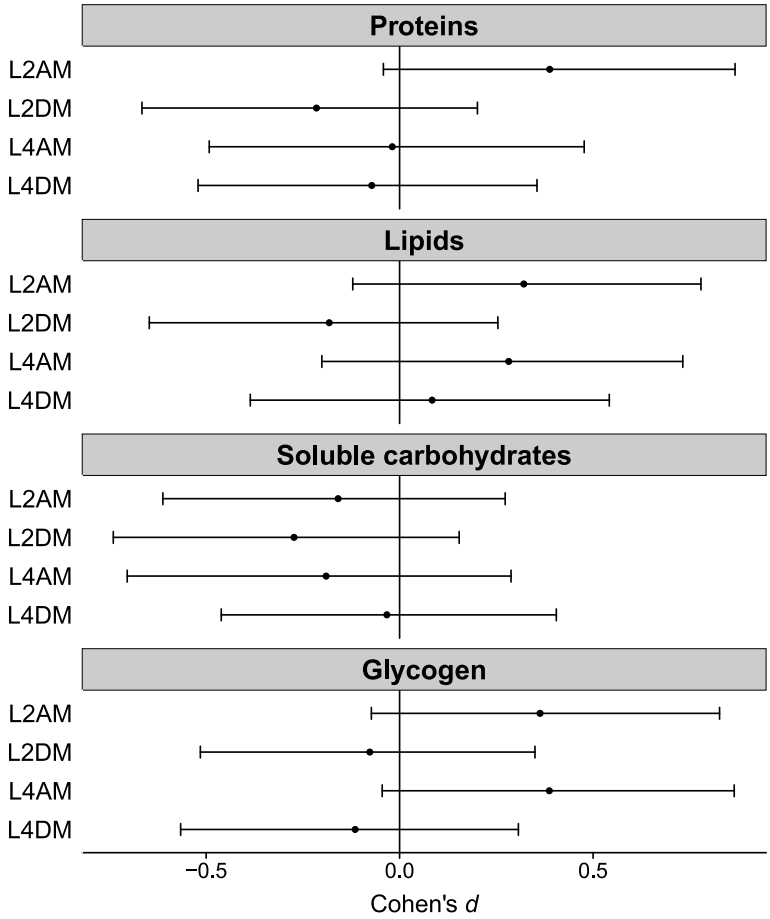


Figure 6: Cohen's *d* and their 95% bootstrapped confidence intervals (10 000 iterations) reflecting the effect size of thermal treatment (comparing control versus heat wave) on the energetic reserves for each of the four modalities of stage/food combination (defined by the larval stage at which caterpillars were changed from rearing tube and the nutritional quality of the food provided after tube change). Effect size is considered as significantly different from zero when the associated confidence interval does not bracket the zero value.

Group 2: Immune parameters

The three immune parameters inspected were all impacted by thermal treatment in the same way, but not by the combination of larval stage and food treatment or by the interaction between thermal treatment and stage/food combination (Table 1). Overall, the heat wave decreased larval immunocompetence, as shown by higher haemocyte load, PO and total PO activities for individuals continuously raised in the normal regime relative to individuals experiencing the heat wave (Fig. 7A,B,C). These conclusions are supported by measures of effect size calculated when comparing control versus heat wave treatments (haemocyte load: d = 0.213, $CI_{95\%}$ = [0.002; 0.435]; PO activity: d = 0.290, $CI_{95\%}$ = [0.068; 0.511]; total PO activity: d = 0.366, $CI_{95\%}$ = [0.144; 0.594]). Among the different levels of stage/food combination, measures of effect size of thermal treatment reveal complex patterns of immunological response to the heat wave (Fig. 8). For haemocyte load, heat wave decreased immunocompetence only if it occurred early in larval development and if individuals were fed with low quality food after the heat stress (L2DM) (Fig. 8). For PO activity, the negative effect of the heat wave was detectible only if the heat wave happened early during larval development and if individuals were maintained on high quality food after the heat stress (L2AM) (Fig. 8). For total PO activity, heat wave exerted adverse effects on immunity only if individuals were subsequently provided with a low quality food, irrespective of the timing of occurrence of the heat event during larval development (L2DM and L4DM) (Fig. 8). Finally, total PO activity was the only immune effector affected (positively) by larval body size: the larger the caterpillar, the higher the levels of total PO activity (slope = 0.002 ± 0.0005).

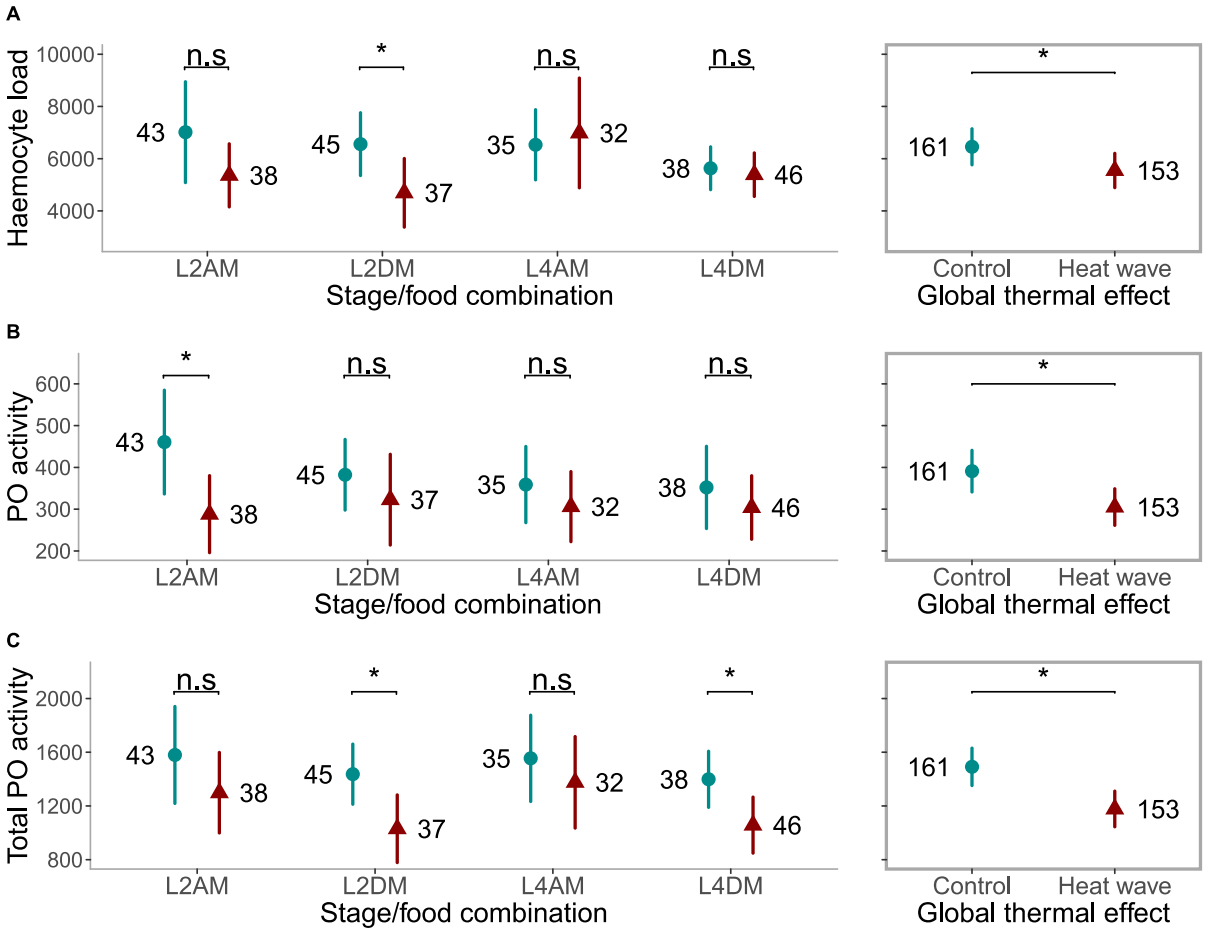


Figure 7: Responses of haemocyte load (number of cells.µl^{-1}) (A), phenoloxidase activity (V_{max} value) (B) and total phenoloxidase activity (V_{max} value) (C) to the thermal treatment (blue circles: control, red triangles: heat wave) and stage/food combination (defined by the larval stage at which caterpillars were changed from rearing tube and the nutritional quality of the food provided after tube change), and to the global effect of thermal treatment alone. Represented values are means ± 95% c.i. Asterisks indicate significant difference (Cohen's *d* significantly different from zero), n.s means non-significant, and numbers refer to sample sizes. Data were analysed by means of GLMs with Gamma error structure incorporating larval body size as a single covariate.

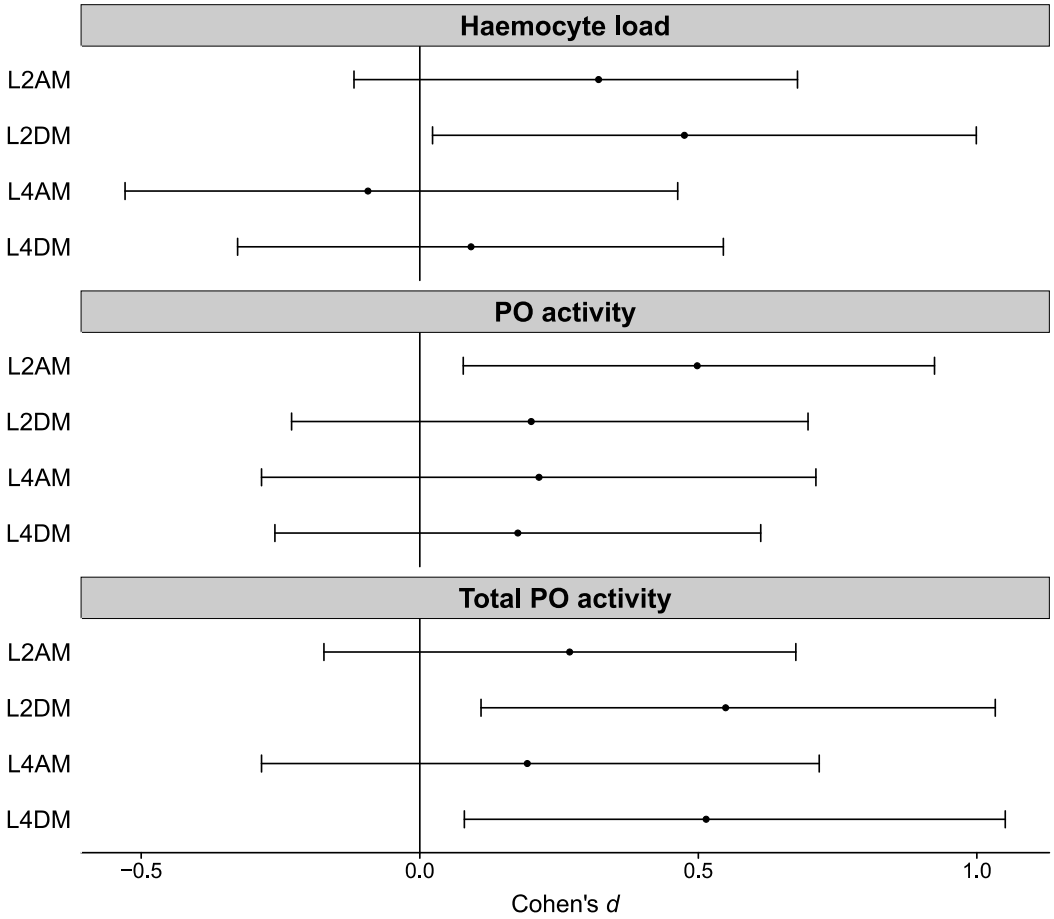


Figure 8: Cohen's *d* and their 95% bootstrapped confidence intervals (10 000 iterations) reflecting the effect size of thermal treatment (comparing control versus heat wave) on the immune parameters for each of the four modalities of stage/food combination (defined by the larval stage at which caterpillars were changed from rearing tube and the nutritional quality of the food provided after tube change). Effect size is considered as significantly different from zero when the associated confidence interval does not bracket the zero value.

Table 1: Effects of thermal treatment faced by caterpillars during their development (control or 48 h exposure to a heat wave), stage/food combination (defined by the larval stage at which caterpillars were changed from rearing tube and the nutritional quality of the food provided after tube change), the interaction between these two variables, and the allometric effect of one covariate (larval body mass for energetic reserves, larval body size for immune parameters) on the different larval traits measured.

	Thermal treatment		**Stage/food combination**		**Interaction**		**Covariate (mass or size)**	
	Test value	*P*	*Test value*	*P*	*Test value*	*P*	*Test value*	*P*
Energetic reserves								
Proteins	$F_{1,317} = 0.23$	0.63	$\boldsymbol{F_{3,317} = 17.6}$	**< 0.001**	$F_{3,317} = 2.47$	0.06	$\boldsymbol{F_{1,317} = 342}$	**< 0.001**
Lipids	$F_{1,301} = 2.00$	0.16	$\boldsymbol{F_{3,301} = 9.29}$	**< 0.001**	$F_{3,301} = 1.08$	0.36	$\boldsymbol{F_{1,301} = 197}$	**< 0.001**
Soluble carbohydrates	$F_{1,318} = 1.83$	0.18	$\boldsymbol{F_{3,318} = 7.75}$	**< 0.001**	$F_{3,318} = 0.63$	0.60	$\boldsymbol{F_{1,318} = 78.6}$	**< 0.001**
Glycogen	$F_{1,318} = 0.01$	0.93	$\boldsymbol{F_{3,318} = 21.8}$	**< 0.001**	$F_{3,318} = 2.66$	0.05	$\boldsymbol{F_{1,318} = 307}$	**< 0.001**
Immune parameters								
Haemocyte load	$\boldsymbol{\chi^2_1 = 1.80}$	**0.04**	$\chi^2_3 = 1.91$	0.26	$\chi^2_3 = 1.97$	0.24	$\chi^2_1 = 0.75$	0.21
PO activity	$\boldsymbol{\chi^2_1 = 4.82}$	**0.01**	$\chi^2_3 = 0.69$	0.81	$\chi^2_3 = 1.46$	0.57	$\chi^2_1 = 1.13$	0.21
Total PO activity	$\boldsymbol{\chi^2_1 = 4.37}$	**< 0.001**	$\chi^2_3 = 2.28$	0.13	$\chi^2_3 = 0.38$	0.81	$\boldsymbol{\chi^2_1 = 2.99}$	**0.01**

Discussion

This study sought to investigate the extent to which the response of *L. botrana* larvae to a realistic heat wave might be influenced by the timing of occurrence of this heat event during larval development and the nutritional quality of the food available after the heat wave. It was conducted to test the hypothesis of stage-dependent compensatory mechanisms based on alimentation, specifically expressed following exposure to extremely warm conditions. Three major conclusions can be drawn from this work. First, the heat wave applied was overall detrimental to *L. botrana* caterpillars, as suggested by its widespread negative effects on most of the traits inspected, especially development and immunity. Second, food quality played an important role in determining the consequences of the heat wave for larval performance, thereby providing experimental support to the hypothesis that larval alimentation is of paramount importance in mediating the way caterpillars respond to adverse thermal conditions encountered during heat wave episode. Indeed, for almost all the fitness correlates impacted by the heat wave (except PO activity), the negative effect of the hot event on larval performance was only detected when larvae were exposed to poorly nutritive food following the heat wave application, whereas no similar decline in performance was observed for individuals kept on high quality food (probably due to complete recovery from the heat stress). Third, clear evidence was found that larval stages differed in their sensitivity to the thermal stress, as the negative impacts of the heat wave on larval performance were in most cases restricted to one larval stage only. Interestingly, conclusions about the larval stage being the most susceptible to heat damage were highly trait-dependent: heat wave delayed development only if it affected old larvae, while for immunity heat wave impacts were mostly detected for young larvae (haemocyte load and PO activity). Hence, by contrast with our initial expectations, we did not find obvious experimental support to the assumption that compensatory responses should more efficiently occur in case of an early heat wave, affecting larvae at the very start of their development. In a rapidly changing climatic context, this study should contribute to increase our mechanistic understanding of how individuals and species could cope with temporary events of extreme heat, from physiological, ecological and evolutionary perspectives.

Climate projections for the coming century suggest that living organisms will face the challenge of more and more frequent, intense and increasingly longer periods of abnormally high temperatures (IPCC, 2014; Meehl and Tebaldi, 2004). In our study, we found that a 48 h exposure to a realistic heat wave elicited extensive and detrimental effects on several aspects of performance in caterpillars of the moth *L. botrana*. On one side, the heat wave overall delayed larval development, as evidenced by a lower pupation rate at 14 days for individuals temporarily subjected to the heat wave relative to those continuously reared in the normal regime. In insect species, an extended development appears to be a common pattern of individual response to a heat wave, and presumably results from the physiological damage sustained during periods of exposure to temperatures above the thermal optimum for developmental function (i.e. temperature at which development is fastest) (Chiu et al., 2015; Gillespie et al., 2012; Jeffs and Leather, 2014). Here, *L. botrana* caterpillars having experienced the heat wave regime spent 12 h each day at supraoptimal temperatures, provided that thermal optimum for development in this species lies between 28 and 30°C (Briere and Pracros, 1998). Such chronic exposure to stressful thermal conditions for two consecutive days could account for the differences in pupation rate at 14 days observed between heat wave and control treatment. On the other side, we found that larval immunity, including all the three immune parameters examined, was severely depressed by the heat wave. This study therefore brings first lines of evidence that a transient exposure to high temperature spikes may further compromise immune function in this species, beyond the immunosuppressive effects associated with a rise in mean temperature of rearing conditions previously evidenced (Iltis et al., 2018; Iltis et al., 2019). Hence, our results highlight that heat waves might have persistent implications on the defensive abilities of a host vulnerable stage against its natural enemies, and that such extreme thermal events could predispose natural populations of *L. botrana* to infection by larval parasitoids.

The negative effects of the heat wave on fitness-related traits were largely restricted to individuals having access to poorly nutritive food after the heat exposure, while those maintained on high quality medium did not suffer from a similar decline in larval performance. The importance of nutrition in modulating the thermal response of phytophagous insects is increasingly acknowledged and is thought to result from the impacts of temperature on metabolic rates and energy requirements (Clissold and

Simpson, 2015; Diamond and Kingsolver, 2010; Lemoine et al., 2014; Triggs and Knell, 2012). In this regard, food availability has been shown to primarily mediate the way insects will respond to high temperatures faced during heat wave episode. Previous works indeed reported that individuals subjected to a food deprivation concomitantly with a heat stress were more susceptible to the heat-related reduction of performance (Adamo et al., 2012; Karl et al., 2011). From a more qualitative perspective, our study is the first emphasising that insect ability to cope with a temporary heat stress also hinges on the nutritional value of the food available after the heat wave. Interestingly, individuals raised on poorly (depleted medium) and highly (augmented medium) nutritive food after the heat wave differed in their energetic budgets, the former having lower reserves relative to the latter. This means that the immunosuppressive effects of the heat wave were mostly detectible for individuals with relatively low energetic reserves due to poor food quality, a finding that could be attributable to the supposed existence of resource-based trade-offs among immune function and stress response (Karl et al., 2011). Exposure to stressful heat conditions is known to trigger a widespread intracellular response consisting of the expression of a set of heat shock proteins, which act as protective agents actively contributing to enhance insect ability to withstand a thermal stress and to recover from the stress injuries (Feder and Hofmann, 1999; King and MacRae, 2015). Just like keeping high levels of immunity, activating a heat stress response based on production of heat shock proteins is assumed to be energy-demanding, such that trade-offs between these two biological functions should be expected in context of energy shortage (Karl et al., 2011; Krebs and Loeschcke, 1994). Under harsh environmental conditions as those related with heat wave application, larvae constrained by a low quality food might thus favour allocating resources to an appropriated heat shock response to promote heat tolerance and maintain high survival rates as those recorded in this study at the expense of immune function.

Besides dependency regarding the nutritive value of the food provided after the heat event, we also found that the heat wave impacts varied substantially among ontogenetic stages, in a trait-specific manner. For development, the adverse impacts of the heat wave were specifically detected in case of a late exposure (involving fourth instar larvae), while heat wave applied to caterpillars at an earlier ontogenetic stage (second instar larvae) did not significantly influence this physiological process. These

findings suggest that *L. botrana* caterpillars may be able to fully compensate for the physiological costs associated with exposure to supraoptimal temperatures if enough time has elapsed to allow such recovery to occur (even with poorly nutritive food). Congruently with previous experimental investigations, our results for development points out that the biological impacts of heat waves can be interpreted through the lens of a subtle balance between damage sustained during hot, stressful days and the duration of repair periods acting as buffer against the negative consequences of heat exposure for organisms (Ma et al., 2018; Zhang et al., 2015a). For immunity, heat wave elicited extensive negative effects on the three traits examined especially when it occurred relatively early during larval development, while heat wave impacting older larvae only had minor consequences in terms of immunocompetence (lower total PO activity). Hence, by contrast with development, the time left to express compensatory responses after the heat wave does not appear to be a good predictor of the consequences of the heat stress in terms of immunity. Rather, these results might more likely arise from differences in susceptibility to high temperatures between the two ontogenetic stages studied. In this regard, it could be hypothesised that larval investment in heat stress response might vary ontogenetically, as shown by a marked variation in heat tolerance across developmental stages in other butterfly models (Klockmann et al., 2017; Zhang et al., 2015a; Zhang et al., 2015b). As a result, the above mentioned trade-off between heat tolerance and immunity could be age-dependent, such that young larvae may invest the most in physiological buffering mechanisms to endure prevailing heat conditions (and, consequently, the least in immunity) because of their high vulnerability (e.g. limited ability to escape from thermal stress, small body size) to high temperatures and desiccation (Klockmann et al., 2017).

To conclude, we provide here the first experimental evidence that post-stress nutrition (manipulated through variation in food quality after the heat wave) can contribute to alleviate the adverse effects of a heat wave for individual performance, but this modulation was highly sensitive to the life stage being concerned by the heat event. We believe that these findings raise several worth-investigating points, from both physiological, ecological and evolutionary perspective. From a physiological perspective, the supposed link between the intensity of the stress response specifically triggered by the heat and immunity still need to be demonstrated at this step (Karl et al., 2011). In addition, more direct measurements of larval nutrition, such as food intake

and gain of body mass before and after the heat wave application, would be appreciated to further support the existence of a compensatory feeding response. From an ecological perspective, we still have a limited understanding of how multiple environmental stressors will interact to shape the future dynamics of insect populations within a changing climatic context (Kaunisto et al., 2016). Global warming will impact herbivorous insects in both direct (through modification of thermal environments) and indirect ways (by altering plant nutritional value), the latter presumably having strong repercussions for insect-plant relationships (Clissold and Simpson, 2015; Lemoine et al., 2014). By stressing the importance of food quality for the ability of individuals to cope with short periods of extreme temperatures, we demonstrated that these two pathways might interact in non-easily predictable ways. Therefore, in spite of an almost unlimited food supply within agroecosystems, insect pests may not necessarily benefit from global warming and variability in response of pest populations to climate change can be expected depending on the nutritional value of the plant tissues ingested (Adamo et al., 2012; Bale et al., 2002). From an evolutionary perspective, our study emphasises that the selective pressure exerted by excessively high temperatures on herbivorous insects can be mediated by both endogenous (life stage impacted) and external (dietary conditions) contingent factors. This suggests that the intensity of the selection for heat stress tolerance might show great variation among insect populations depending on the degree to which insect phenology (determining the life stage hit by the heat wave) and plant nutritional value are altered by warming conditions. Thus, it would be of particular relevance to consider the way global trends (rise in mean temperature) and extreme events (heat waves), as two concomitant facets of climate change, would interact to shape the future evolutionary trajectories of insect populations.

List of symbols and abbreviations

AM: Augmented Medium

DM: Depleted Medium

GCM: Global Circulation Model

RCM: Regional Climate Model

PO: Phenoloxidase

PPO: Prophenoloxidase

PBS: Phosphate Buffer Saline

GLM: Generalised Linear Model

ANCOVA: Analysis of Covariance

Acknowledgements

We are grateful to L. Delbac who maintained and managed the insect stock, B. Bois and S. Zito who designed the thermal regimes. We also want to thank L. Chevallier, P. Hübner, R. Kuzmin, R. Quinaux, A. Rathery, L. Vénague and E. Woehr for their technical assistance during the experiments.

Competing interests

No competing interests declared.

Author contributions

All authors conceived the experimental design. C.I. conducted the experiments. C.I. and P.L. analysed the data. C.I., P.L. and J.M. led the writing of the manuscript. All authors revised the draft and gave their final approbation for the latest version to be published.

Funding

This work was funded by the Conseil Régional de Bourgogne Franche-Comté through the plan d'actions régional pour l'innovation (PARI to J.M.) and two additional fund sources (FABER LOUAPRE-AGREE-BGS to P.L. and VALEACLIM-BOIS to B. Bois),

and the European Union through the PO-FEDER-FSE Bourgogne 2014/2020 programs to J.M.

Data availability

Data will be made publicly available on Dryad Digital Repository once the paper accepted.

References

Adamo, S. A., Baker, J. L., Lovett, M. M. E. and Wilson, G. (2012). Climate change and temperate zone insects: the tyranny of thermodynamics meets the world of limited resources. *Environ. Entomol.* **41**, 1644–1652.

Bale, J. S., Masters, G. J., Hodkinson, I. D., Awmack, C., Bezemer, T. M., Brown, V. K., Butterfield, J., Buse, A., Coulson, J. C., Farrar, J., et al. (2002). Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Glob. Chang. Biol.* **8**, 1–16.

Barnay, O., Hommay, G., Gertz, C., Kienlen, J. C., Schubert, G., Marro, J. P., Pizzol, J. and Chavigny, P. (2001). Survey of natural populations of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) in the vineyards of Alsace (France). *J. Appl. Entomol.* **125**, 469–477.

Beetge, L. and Krüger, K. (2019). Drought and heat waves associated with climate change affect performance of the potato aphid *Macrosiphum euphorbiae*. *Sci. Rep.* **9**, 3645.

Bellard, C., Bertelsmeier, C., Leadley, P., Thuiller, W. and Courchamp, F. (2012) Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecol. Lett.* **15**, 365–377.

Bowler, K. and Terblanche, J. S. (2008). Insect thermal tolerance: what is the role of ontogeny, ageing and senescence? *Biol. Rev.* **83**, 339–355.

Briere, J.-F. and Pracros, P. (1998). Comparison of temperature-dependent growth models with the development of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environ. Entomol.* **27**, 94–101.

Buckley, L. B. and Huey, R. B. (2016). How extreme temperatures impact organisms and the evolution of their thermal tolerance. *Integr. Comp. Biol.* **56**, 98–109.

Carton, Y., Poirié, M. and Nappi, A. J. (2008). Insect immune resistance to parasitoids. *Insect Sci.* **15**, 67–87.

Cerenius, L. and Soderhall, K. (2004). The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunol. Rev.* **198**, 116–126.

Chiu, M.-C., Kuo, J.-J. and Kuo, M.-H. (2015). Life stage-dependent effects of experimental heat waves on an insect herbivore. *Ecol. Entomol.* **40**, 175–181.

Clissold, F. J. and Simpson, S. J. (2015). Temperature, food quality and life history traits of herbivorous insects. *Curr. Opin. Insect Sci.* **11**, 63–70.

Diamond, S. E. and Kingsolver, J. G. (2010). Environmental dependence of thermal reaction norms: host plant quality can reverse the temperature-size rule. *Am. Nat.* **175**, 1–10.

Easterling, D. R., Horton, B., Jones, P. D., Peterson, T. C., Karl, T. R., Parker, D. E., Salinger, M. J., Razuvayev, V., Plummer, N., Jamason, P., et al. (1997). Maximum and minimum temperature trends for the globe. *Science* **277**, 364–367.

Easterling, D. R., Evans, J. L., Groisman, P. Y., Karl, T. R., Kunkel, K. E., Ambenje, P. (2000). Observed variability and trends in extreme climate events: a brief review. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* **81**, 417–425.

Feder, M. E. and Hofmann, G. E. (1999). Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annu. Rev. Physiol.* **61**, 243–282.

Fischer, K., Klockmann, M. and Reim, E. (2014). Strong negative effects of simulated heat waves in a tropical butterfly. *J. Exp. Biol.* **217**, 2892–2898.

Foray, V., Pelisson, P.-F., Bel-Venner, M.-C., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., Giron, D. and Rey, B. (2012). A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel's method (1985) revisited. *Physiol. Entomol.* **37**, 295–302.

Gillespie, D. R., Nasreen, A., Moffat, C. E., Clarke, P. and Roitberg, B. D. (2012). Effects of simulated heat waves on an experimental community of pepper plants, green peach aphids and two parasitoid species. *Oikos* **121**, 149–159.

González-Santoyo, I. and Córdoba-Aguilar, A. (2012). Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. *Entomol. Exp. Appl.* **142**, 1–16.

Gutierrez, A. P., Ponti, L., Cooper, M. L., Gilioli, G., Baumgärtner, J. and Duso, C. (2012). Prospective analysis of the invasive potential of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) in California. *Agric. For. Entomol.* **14**, 225–238.

Iltis, C., Martel, G., Thiéry, D., Moreau, J. and Louâpre, P. (2018). When warmer means weaker: high temperatures reduce behavioural and immune defences of the larvae of a major grapevine pest. *J. Pest Sci.* **91**, 1315–1326.

Iltis, C., Louâpre, P., Pecharová, K., Thiéry, D., Zito, S., Bois, B. and Moreau, J. (2019) Are life-history traits equally affected by global warming? A case study combining a multi-trait approach with fine-grain climate modeling. *J. Insect Physiol.* **117**, 103916.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2014) Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (ed. R.K. Pachauri and L.A. Meyer). Geneva, Switzerland.

Jeffs, C. T. and Leather, S. R. (2014). Effects of extreme, fluctuating temperature events on life history traits of the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Entomol. Exp. Appl.* **150**, 240–249.

Jentsch, A., Kreyling, J. and Beierkuhnlein, C. (2007). A new generation of climate-change experiments: events, not trends. *Front. Ecol. Environ.* **5**, 365–374.

Karl, I., Stoks, R., De Block, M., Janowitz, S. A. and Fischer, K. (2011). Temperature extremes and butterfly fitness: conflicting evidence from life history and immune function. *Glob. Chang. Biol.* **17**, 676–687.

Kaunisto, S., Ferguson, L. V and Sinclair, B. J. (2016). Can we predict the effects of multiple stressors on insects in a changing climate? *Curr. Opin. Insect Sci.* **17**, 55–61.

King, A. M. and MacRae, T. H. (2015). Insect heat shock proteins during stress and diapause. *Annu. Rev. Entomol.* **60**, 59–75.

Klockmann, M., Günter, F. and Fischer, K. (2017). Heat resistance throughout ontogeny: body size constrains thermal tolerance. *Glob. Chang. Biol.* **23**, 686–696.

Krebs, R. A. and Loeschcke, V. (1994). Costs and benefits of activation of the heat-shock response in *Drosophila melanogaster*. *Funct. Ecol.* **8**, 730–737.

Lavine, M. D. and Strand, M. R. (2002). Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **32**, 1295–1309.

Lemoine, N. P., Burkepile, D. E. and Parker, J. D. (2014). Variable effects of temperature on insect herbivory. *PeerJ* **2**, e376.

Ma, G. and Ma, C.-S. (2012). Climate warming may increase aphids' dropping probabilities in response to high temperatures. *J. Insect Physiol.* **58**, 1456–1462.

Ma, G., Rudolf, V. H. W. and Ma, C.-S. (2015a). Extreme temperature events alter demographic rates, relative fitness, and community structure. *Glob. Chang. Biol.* **21**, 1794–1808.

Ma, G., Hoffmann, A. A. and Ma, C.-S. (2015b). Daily temperature extremes play an important role in predicting thermal effects. *J. Exp. Biol.* **218**, 2289–2296.

Ma, C.-S., Wang, L., Zhang, W. and Rudolf, V. H. W. (2018). Resolving biological impacts of multiple heat waves: interaction of hot and recovery days. *Oikos* **127**, 622–633.

Martín-Vertedor, D., Ferrero-García, J. J. and Torres-Vila, L. M. (2010). Global warming affects phenology and voltinism of *Lobesia botrana* in Spain. *Agric. For. Entomol.* **12**, 169–176.

Meehl, G. A. and Tebaldi, C. (2004). More intense, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century. *Science* **305**, 994–997.

Moreau, J., Arruego, X., Benrey, B. and Thiéry, D. (2006). Differences in nutritional quality of parts of *Vitis vinifera* berries affect fitness of the European grapevine moth. *Entomol. Exp. Appl.* **119**, 93–99.

Moreau, J., Thiéry, D., Troussard, J. P. and Benrey, B. (2007). Grape variety affects female but also male reproductive success in wild European grapevine moths.

Ecol. Entomol. **32**, 747–753.

Muller, K., Vogelweith, F., Thiéry, D., Moret, Y. and Moreau, J. (2015). Immune benefits from alternative host plants could maintain polyphagy in a phytophagous insect. *Oecologia* **177**, 467–475.

Nakagawa, S. and Cuthill, I. C. (2007). Effect size, confidence interval and statistical significance: a practical guide for biologists. *Biol. Rev.* **82**, 591–605.

Parmesan, C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **37**, 637–669.

Perkins, S. E., Alexander, L. V. and Nairn, J. R. (2012). Increasing frequency, intensity and duration of observed global heatwaves and warm spells. *Geophys. Res. Lett.* **39**, L20714.

Potter, K. A., Davidowitz, G. and Arthur Woods, H. (2011). Cross-stage consequences of egg temperature in the insect *Manduca sexta*. *Funct. Ecol.* **25**, 548–556.

Poyet, M., Havard, S., Prevost, G., Chabrerie, O., Doury, G., Gibert, P. and Eslin, P. (2013). Resistance of *Drosophila suzukii* to the larval parasitoids *Leptopilina heterotoma* and *Asobara japonica* is related to haemocyte load. *Physiol. Entomol.* **38**, 45–53.

Rodriguez-Trelles, F., Tarrio, R. and Santos, M. (2013). Genome-wide evolutionary response to a heat wave in *Drosophila*. *Biol. Lett.* **9**, 20130228.

Sentis, A., Hemptinne, J.-L. and Brodeur, J. (2013). Effects of simulated heat waves on an experimental plant-herbivore-predator food chain. *Glob. Chang. Biol.* **19**, 833–842.

Smith, TT., Zaitchik, B.F. and Gohlke, J.M. (2013) Heat waves in the United States: definitions, patterns and trends. *Climatic Change*. **118**, 811–825.

Stoks, R., Verheyen, J., Van Dievel, M. and Tüzün, N. (2017). Daily temperature variation and extreme high temperatures drive performance and biotic interactions in a warming world. *Curr. Opin. Insect Sci.* **23**, 35–42.

Tan, J., Zheng, Y., Song, G., Kalkstein, L. S., Kalkstein, A. J. and Tang, X. (2006).

Heat wave impacts on mortality in Shanghai, 1998 and 2003. *Int. J. Biometeorol.* **51**, 193–200.

Thiéry, D. and Moreau, J. (2005). Relative performance of European grapevine moth (*Lobesia botrana*) on grapes and other hosts. *Oecologia* **143**, 548–557.

Thiéry, D., Monceau, K. and Moreau, J. (2014). Larval intraspecific competition for food in the European grapevine moth *Lobesia botrana*. *Bull. Entomol. Res.* **104**, 517–524.

Thiéry, D., Louâpre, P., Muneret, L., Rusch, A., Sentenac, G., Vogelweith, F., Iltis, C. and Moreau, J. (2018). Biological protection against grape berry moths. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **38**, 15.

Triggs, A. and Knell, R. J. (2012). Interactions between environmental variables determine immunity in the Indian meal moth *Plodia interpunctella*. *J. Anim. Ecol.* **81**, 386–394.

Van Dievel, M., Stoks, R. and Janssens, L. (2017). Beneficial effects of a heat wave: higher growth and immune components driven by a higher food intake. *J. Exp. Biol.* **220**, 3908–3915.

Vogelweith, F., Thiéry, D., Quaglietti, B., Moret, Y. and Moreau, J. (2011). Host plant variation plastically impacts different traits of the immune system of a phytophagous insect. *Funct. Ecol.* **25**, 1241–1247.

Vogelweith, F., Moret, Y., Thiéry, D. and Moreau, J. (2013a). *Lobesia botrana* larvae develop faster in the presence of parasitoids. *PLoS One* **8**, e72568.

Vogelweith, F., Thiéry, D., Moret, Y. and Moreau, J. (2013b). Immunocompetence increases with larval body size in a phytophagous moth. *Physiol. Entomol.* **38**, 219–225.

Vogelweith, F., Thiéry, D., Moret, Y., Colin, E., Motreuil, S. and Moreau, J. (2014). Defense strategies used by two sympatric vineyard moth pests. *J. Insect Physiol.* **64**, 54–61.

Walther, G.-R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J. C., Fromentin, J.-M., Hoegh-Guldberg, O. and Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature* **416**, 389–395.

Woods, H. A. (2013). Ontogenetic changes in the body temperature of an insect herbivore. *Funct. Ecol.* **27**, 1322–1331.

Zhang, W., Zhao, F., Hoffmann, A. A. and Ma, C.-S. (2013). A single hot event that does not affect survival but decreases reproduction in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *PLoS One* **8**, e75923.

Zhang, W., Chang, X.-Q., Hoffmann, A., Zhang, S. and Ma, C.-S. (2015a). Impact of hot events at different developmental stages of a moth: the closer to adult stage, the less reproductive output. *Sci. Rep.* **5**, 10436.

Zhang, W., Rudolf, V. H. W. and Ma, C.-S. (2015b). Stage-specific heat effects: timing and duration of heat waves alter demographic rates of a global insect pest. *Oecologia* **179**, 947–957.

CONCLUSIONS MAJEURES DU CHAPITRE

Le Chapitre V caractérise les effets négatifs d'une vague de chaleur sur plusieurs traits (développement, immunité) reliés à la performance des chenilles d'eudémis. Deux niveaux de lecture peuvent être appliqués à ces résultats et permettent de mieux cerner l'importance prise par l'alimentation dans l'expression de la réponse individuelle à une vague de chaleur précoce ou tardive.

Premièrement, la réduction de performance résultant de l'exposition à la vague de chaleur n'est, dans la grande majorité des cas, observée que lorsque les individus sont approvisionnés avec une nourriture de faible qualité post-stress. *A contrario*, les chenilles maintenues sur un milieu nutritif de bonne qualité ne subissent aucun ralentissement du développement larvaire ou déclin de la fonction immunitaire consécutivement à la vague de la chaleur. Ceci indique que les chenilles d'eudémis peuvent complètement compenser les effets négatifs de la vague de chaleur en termes de performance individuelle, mais que l'efficacité de cette compensation semble, au moins en partie, dépendante de la qualité de l'alimentation post-stress.

Deuxièmement, la sensibilité à la vague de chaleur semble effectivement stade-spécifique, mais les conclusions quant au stade étant le plus vulnérable au stress appliqué dépendent du trait considéré. Pour le développement des chenilles, les effets négatifs de la vague de chaleur sont tangibles uniquement dans un cas d'exposition tardive, impliquant des chenilles en fin de développement larvaire (stade L4). Pour les paramètres immunitaires, le pattern inverse est trouvé : une vague de chaleur précoce (stade L2) s'accompagne de répercussions plus profondes sur les effecteurs immunitaires quantifiés qu'une vague de chaleur tardive.

En résumé, cette étude suggère que le rôle joué par l'alimentation post-stress dans la réponse individuelle à la vague de la chaleur est bien conditionné par le stade de vie affecté, mais le pattern semble plus complexe (dépendant, notamment, du trait considéré) que ce que les attendus laissaient initialement supposer. De tels résultats impliquent que les impacts d'une vague de chaleur sur les individus et les populations sont modulés par une combinaison de facteurs intrinsèques (stade de vie affecté par la vague de chaleur) et extrinsèques (qualité de la nourriture disponible post-stress) à l'organisme étudié.

Chapitre VI

Discussion générale

L'objectif de cette thèse était d'explorer les conséquences du réchauffement climatique sur la performance d'un ravageur des cultures, l'eudémis de la vigne (*L. botrana*), dans le contexte écologique des relations tritrophiques reliant cette espèce à un niveau trophique inférieur (la plante hôte) et un niveau trophique supérieur (les parasitoïdes). Le traitement de cette question scientifique, par voie expérimentale, s'est notamment distingué par la grande diversité de traits d'histoire de vie mesurés, mais également de manières de concevoir le réchauffement climatique au travers des régimes thermiques comparés dans les différents designs expérimentaux. Cette approche holistique a ainsi permis de caractériser une certaine variabilité de réponses thermiques entre traits, mais également, pour un même trait, des réponses aux différentes facettes du changement climatique parfois dissemblables. Une synthèse de ces résultats est présentée dans le Tableau 1 ci-dessous. L'examen des réponses des traits des chenilles et adultes aux différentes manifestations du réchauffement permettra, dans un premier lieu, d'établir des prédictions relatives à la réponse du ravageur à ce phénomène climatique global. Ce point sera l'objet du premier volet de la discussion, qui se déclinera autour des conséquences du changement climatique sur (i) le voltinisme et la phénologie d'eudémis, et (ii) le succès de reproduction des papillons et la dynamique d'abondance des populations de ce ravageur, et (iii) l'évolution de la dynamique trophique entre l'eudémis et ses ennemis naturels (parasitoïdes larvaires et oophages). Le second volet de la discussion proposera des pistes de recherche permettant d'investir des concepts venant compléter les résultats de cette thèse et affiner les prédictions pouvant être formulées dans une perspective appliquée d'anticipation des effets du réchauffement sur les populations du ravageur. Il sera alors notamment question (i) de l'intérêt de l'augmentation de la résolution spatiale pour prédire les changements se produisant réellement dans l'environnement thermique direct de l'insecte, jusqu'à une conception microclimatique de cet environnement, (ii) de la manière dont le premier niveau trophique (la plante hôte) peut façonner la réponse du ravageur à la température et (iii) d'une vision orientée davantage vers les effets du réchauffement à une échelle pluri-générationnelle, examinant l'importance de mécanismes de réponse autres que la plasticité phénotypique intragénérationnelle dans la réponse du ravageur au changement climatique.

Tableau 1 : *Résumé synthétique des résultats obtenus avec différentes méthodes d'imitation du réchauffement climatique au cours de la thèse. Les effets reportés renvoient aux conséquences d'une augmentation de température moyenne sur l'expression des traits dans les différents designs expérimentaux. Les cases grisées indiquent que le trait n'a pas été mesuré dans l'étude en question.*

	Régimes constants (Chapitre III)	Régimes fluctuants (Chapitre IV)	Vague de chaleur (Chapitre V)
Performance larvaire			
Développement	**Positif**	**Positif**	**Négatif**
Croissance	**Positif**		
Défenses morphologiques	**Nul**		
Défenses comportementales	**Négatif (*twisting*, *dropping*)**	**Positif (*flee*)**	
Immunité	**Négatif**	**Négatif**	**Négatif**
Réserves		**Négatif (lipides)**	**Nul**
Performance de la femelle adulte			
Masse pupale	**Positif**	**Nul**	
Réserves		**Nul**	
Succès d'accouplement		**Négatif**	
Fécondité		**Nul**	
Fertilité		**Nul**	
Taux de ponte		**Nul**	
Taille des œufs		**Nul**	
Longévité		**Négatif**	
Performance du mâle adulte			
Masse pupale	**Positif**	**Nul**	
Réserves		**Nul**	
Succès d'accouplement		**Nul**	
Volume du spermatophore		**Nul**	
Qualité du sperme		**Négatif**	
Longévité		**Négatif**	

1. COMMENT LE RÉCHAUFFEMENT CLIMATIQUE POURRAIT-IL IMPACTER LES POPULATIONS D'EUDÉMIS DANS LE CONTEXTE DES RÉSEAUX TRITROPHIQUES ?

Il a, de par le passé, été supposé que le réchauffement climatique devrait bénéficier, dans une certaine mesure, aux espèces des régions tempérées en rapprochant la température moyenne de l'environnement de leur optimum thermique, en particulier dans les zones les plus froides de leur aire de répartition (Deutsch et al., 2008; Deutsch et al., 2018). Se basant sur ces conclusions et en considérant la distribution principalement méditerranéenne d'eudémis en France, il serait attendu que le réchauffement climatique observé localement en Bourgogne augmente d'une manière substantielle l'abondance des populations du ravageur dans cette région et les dégâts associés par l'activité viticole locale (Thiéry et al., 2018). Les résultats obtenus au cours des différentes études de cette thèse exhortent à la prudence quant à de telles conclusions et permettent de dresser un constat un peu plus nuancé des impacts locaux du réchauffement sur l'eudémis. En effet, ils soulignent la diversité des réponses des traits du ravageur aux différentes facettes du changement climatique, et semblent impliquer des conséquences complexes en termes de dynamique des populations de l'espèce et d'interaction avec les deux niveaux trophiques associés au sein des réseaux tritrophiques.

1.1. Évolution du voltinisme et de la phénologie

L'une des conséquences d'une durée de développement raccourcie, comme celle observée en réponse à l'augmentation de température moyenne appliquée dans les études des Chapitres III et IV (Manuscrits 1, 2 et 3), est une réduction de la durée du cycle biologique et donc une augmentation du voltinisme de l'espèce (Bale et al., 2002). Sur ce point, les résultats obtenus au cours de ces travaux de thèse s'accordent avec des observations *in situ* comme celles effectuées dans plusieurs vignobles en Espagne, où les populations de *L. botrana* réalisent dorénavant une génération supplémentaire (la quatrième de la saison), en lien avec une augmentation de température moyenne enregistrée localement sur les 20 dernières années (Martín-Vertedor et al., 2010). Ce phénomène s'explique non seulement par les effets positifs de la température sur le développement d'eudémis, mais également par une avancée

significative de la phénologie de l'espèce (de 12 jours sur les 20 années de suivis), elle aussi provoquée par le réchauffement local récemment observé (Martín-Vertedor et al., 2010).

En exposant les cultures à une génération supplémentaire du ravageur, le réchauffement climatique pourrait donc accentuer les pertes imputables à la présence de *L. botrana* dans les vignobles. Cependant, les conclusions des modèles phénologiques couplés du ravageur et de la plante hôte ne sont pas aussi catégoriques, car les dégâts pouvant être causés par la génération supplémentaire d'eudémis risquent d'être grandement influencés par la réponse phénologique de la vigne à la température (Caffarra et al., 2012). Cette dernière consiste également en un avancement du timing des principaux événements phénologiques de la plante (débourrement des bourgeons, floraison) à mesure que la température augmente, résultant en des dates de récolte de la production viticole de plus en plus précoces au fil des dernières décennies de réchauffement (van Leeuwen and Darriet, 2016; Webb et al., 2012). En considérant l'exemple de la France, les dates des vendanges ont été anticipées de plusieurs semaines au cours des 50 dernières années (Seguin and Garcia de Cortazar, 2005; van Leeuwen and Darriet, 2016), impliquant que les ressources alimentaires nécessaires au développement complet de la génération supplémentaire du ravageur sont susceptibles d'être rapidement retirées de l'agroécosystème (Caffarra et al., 2012). Ce phénomène pourrait concourir à réduire l'abondance du ravageur et les dégâts aux cultures associés lors de la fin de la saison de croissance de la plante (Caffarra et al., 2012; Thiéry et al., 2018). Ainsi, les modèles couplant la phénologie de *L. botrana* et celle de la plante hôte ne prédisent, dans un contexte de réchauffement, qu'une augmentation mineure du nombre de générations du ravageur avant récolte (Caffarra et al., 2012). Ces conclusions peuvent être modulées par les pratiques viticoles en vigueur, comme les cépages cultivés, qui conditionnent également la phénologie de la plante hôte et les dates de vendange (Caffarra et al., 2012).

De plus, les modifications phénologiques causées par l'augmentation de température ne sont pas nécessairement de même amplitude entre le ravageur et la plante hôte, du fait de différences de sensibilité thermique entre ces deux niveaux trophiques (Renner and Zohner, 2018; Singer and Parmesan, 2010). Dans l'exemple de l'interaction trophique entre l'eudémis et la vigne, le premier pic d'émergence des

adultes tend à se produire un mois plus tôt dans le Sud de l'Italie en comparaison du Nord du pays pour le ravageur. En considérant le même gradient thermique latitudinal, la différence pour la plante (timing de floraison) est de 2 à 3 semaines tout au plus (Caffarra et al., 2012). Ces résultats suggèrent que le réchauffement climatique pourrait modifier le degré de synchronisation entre *L. botrana* et la vigne, un paramètre important à prendre en considération du fait des différences de valeur nutritive entre stades de développement des organes fructifères de la plante pour le ravageur (Gabel and Roehrich, 1995; Savopoulou-Soultani et al., 1999; Torres-Vila et al., 1999). Cette modification de la relation plante-insecte induite par le réchauffement est susceptible de bénéficier à l'une ou l'autre des deux espèces, en fonction du degré de synchronisation entre stades phénologiques résistants de la plante (peu propices au développement des larves) et chenilles du ravageur. Elle peut ainsi atténuer ou amplifier les pertes de récolte attribuables à la présence d'une génération supplémentaire du ravageur (Caffarra et al., 2012).

1.2. Succès de reproduction des adultes et dynamique d'abondance des populations du ravageur

Les résultats du Chapitre IV (Manuscrit 3) ont plusieurs implications majeures non seulement pour la dynamique d'abondance des populations d'eudémis, mais aussi pour l'amélioration des modèles prédictifs de cette dynamique et basés sur la sensibilité thermique de plusieurs processus physiologiques de l'espèce. Les résultats principaux de l'étude étaient une réduction de la performance sexuelle et de la longévité des femelles et des mâles s'étant développés dans le régime le plus chaud depuis leur premier stade larvaire. Ce déclin était perceptible sur le succès d'accouplement chez les femelles et le nombre de paquets d'eupyrènes comme estimateur de la qualité du sperme chez les mâles.

Les données obtenues sur les femelles mettent en évidence une réduction du succès d'accouplement de 26% pour les individus originaires du régime le plus chaud. Le succès d'accouplement ayant été défini comme le rapport entre le nombre de femelles ayant pondu au moins un œuf fertile sur le nombre total de femelles utilisées dans les tests d'accouplement (femelles mises en présence d'un mâle standard), deux hypothèses peuvent être formulées pour expliquer les effets négatifs de la température

sur cette métrique. D'une part, la température de développement pourrait avoir perturbé la phrase précopulatoire de la reproduction des femelles testées, en altérant la production de phéromones (influence sur les réactions enzymatiques à l'origine de la synthèse de ces molécules olfactives), leur émission (investissement des femelles dans l'expression du comportement d'appel), ou encore la composition chimique du bouquet phéromonal (Boullis et al., 2016; Konopka and McNeil, 2017). D'autre part, puisque les femelles ont été replacées dans leur régime thermique d'origine après accouplement, la température aurait pu également réduire la viabilité du sperme des mâles standards et entraver sa migration dans les voies génitales des femelles (Sales et al., 2018).

Les effets potentiels de la température sur la phase précopulatoire de la reproduction d'eudémis (émission et caractéristiques du signal phéromonal des femelles) interrogent sur les possibles conséquences du réchauffement pour la composante comportementale de la reproduction de ce ravageur. Dans les vignobles, la communication phéromonale joue un rôle prépondérant pour permettre la rencontre entre les deux partenaires sexuels, et ainsi la fécondation des femelles (Thiéry, 2005). S'ils font intervenir une perturbation de cette communication chimique entre les deux partenaires sexuels, les effets négatifs de la température sur le succès d'accouplement des femelles peuvent donc être encore plus importants dans des paysages agricoles complexes qu'en conditions de laboratoire, où la promiscuité est susceptible de faciliter le contact des adultes et la copulation. Ceci est d'autant plus vrai que le Chapitre IV (Manuscrit 3) a également permis de caractériser un effet négatif de la température sur la longévité des deux sexes, et donc sur le temps qu'ils peuvent allouer à la recherche d'un partenaire et à l'accouplement. Dans une optique d'extrapolation des résultats obtenus dans le Chapitre IV aux conditions prévalant en milieu naturel, il apparaît donc indispensable d'identifier les effets potentiels des conditions thermiques sur l'investissement des femelles dans l'expression coûteuse du comportement d'appel, et également les répercussions associées sur l'activité de recherche de partenaire des mâles et leur motivation à initier l'accouplement, de même que la modulation thermique directe de ces comportements mâles.

La sensibilité de la qualité du sperme des mâles à la température questionne sur les répercussions pour le potentiel de reproduction des femelles (production d'œufs fertiles) après accouplement. L'intensité du déclin de ce trait clé de la performance sexuelle du mâle était relativement importante (réduction de 50% du nombre de paquets d'eupyrènes contenus dans le sperme en comparant les mâles originaires des régimes froid et chaud). Une telle diminution de la qualité du sperme des mâles peut s'expliquer par des effets négatifs de la température de développement sur la gamétogénèse des spermatozoïdes eupyrènes (qui se réalise à la fin du développement larvaire chez les Lépidoptères) et/ou sur leur migration dans le tractus génital des mâles, des gonades sexuelles où ils sont secrétés jusqu'à leur lieu de stockage avant l'accouplement (Friedländer et al., 2005; Hiroyoshi and Mitsuhashi, 1998; Iossa et al., 2019). De tels résultats illustrent une fois de plus la grande sensibilité des traits sexuels mâles à la température (Iossa et al., 2019; Sales et al., 2018; Stürup et al., 2013; Vasudeva et al., 2014; Zeh et al., 2012). À titre d'exemple, une étude précédemment conduite sur la modulation de la qualité du mâle d'eudémis par la plante hôte (cépage de vigne) a démontré qu'une réduction de 33% du nombre de paquets d'eupyrènes contenus dans le spermatophore conduisait à une diminution significative de la fécondité (-30%) et de la fertilité (-10%) des femelles après accouplement (Muller et al., 2015a). En comparaison de ces résultats, il est donc raisonnable de considérer que les effets négatifs, d'ampleur relativement importante, de la température sur la fertilité des mâles risquent d'avoir des répercussions négatives non négligeables sur la production en œufs des femelles, et donc sur la dynamique des populations du ravageur. Ceci a été récemment confirmé par le biais d'une étude complémentaire réalisée durant cette thèse, dont le manuscrit est actuellement en cours de rédaction, et au cours de laquelle les femelles accouplées avec des mâles originaires du régime le plus chaud subissaient un déclin notable de leur fertilité.

En concluant à une réduction possible de l'abondance de *L. botrana* provoquée par les effets négatifs de la température sur la qualité de l'éjaculat du mâle, le Chapitre IV contraste avec les prédictions dérivées des modèles démographiques basés sur la physiologie de l'espèce. En effet, ces derniers avancent que la densité des populations de ce ravageur devrait augmenter dans les portions septentrionales de son aire de répartition en France, notamment en Bourgogne (Gutierrez et al., 2017). L'une des fonctions vitales incorporées dans les modèles prédictifs des taux de croissance des

populations d'eudémis est la production en œufs des femelles et sa modulation par plusieurs facteurs écologiques (température, stade phénologique de la plante) (Gilioli et al., 2016; Gutierrez et al., 2012; Gutierrez et al., 2017). Au regard des résultats et conclusions de l'étude décrite dans le Manuscrit 3 du Chapitre IV, il serait intéressant d'incorporer également la relation entre cette métrique de ponte et la qualité du sperme du mâle, puisque ce paramètre du succès reproducteur de l'espèce peut s'avérer rapidement limitant à mesure que la température s'élève. Un degré de considération approfondie de la biologie de reproduction d'eudémis devrait ainsi grandement contribuer à l'amélioration de la qualité et de la pertinence des prédictions fournies par ces modèles.

Un autre aspect jusqu'alors occulté est celui des conséquences des vagues de chaleur pour la reproduction d'eudémis. De tels événements thermiques extrêmes se sont accompagnés d'importants effets négatifs sur plusieurs métriques (longévité des adultes, fécondité, dynamique de ponte) reliées à la reproduction et à la dynamique des populations chez d'autres espèces de Lépidoptères à reproduction sur capital (Zhang et al., 2013; Zhang et al., 2015a; Zhang et al., 2015b). Chez la teigne des crucifères par exemple (*Plutella xylostella*), une brève exposition à 40°C conduisait à une réduction significative de la production en œufs des femelles, indépendamment du stade de vie affecté par cette vague de chaleur succincte (Zhang et al., 2015a). La nature stressante de la vague de chaleur appliquée dans le Chapitre V (Manuscrit 5) pour les chenilles d'eudémis apparaît évidente au regard de ses effets négatifs sur différents aspects de la performance larvaire (développement, immunité). Par ailleurs, l'absence d'effet de cette vague de chaleur sur les réserves énergétiques des chenilles observée dans le Chapitre V ne préjuge en rien de ses conséquences pour la reproduction du ravageur. En effet, les résultats des différentes études du Chapitre IV (Manuscrits 2 et 3) démontrent que (i) les réponses des budgets énergétiques des chenilles et des adultes à la température ne sont pas toujours identiques et (ii) les effets de la température sur la reproduction des adultes d'eudémis ne s'expliquent pas par des différences au niveau des réserves pouvant être allouées à l'expression des traits reproducteurs. Ces résultats plaident en faveur d'une investigation un peu plus approfondie des conséquences d'une vague de chaleur, survenant à une ou plusieurs étape(s) du cycle biologique de l'espèce, sur le potentiel de reproduction des adultes d'eudémis. Plus particulièrement, l'étude des conséquences d'une vague de chaleur

survenant à la fin du développement larvaire (durant l'organogénèse des gonades sexuelles mâles) sur le potentiel de reproduction des mâles pourrait être particulièrement intéressante au regard de la sensibilité thermique de la qualité du sperme caractérisée dans le Chapitre IV (Manuscrit 3).

Enfin, il est également important de garder à l'esprit que, chez cette espèce à reproduction sur capital (les adultes subissent des pertes énergétiques sans pouvoir les compenser via l'alimentation), la performance sexuelle est une caractéristique évoluant dans le temps car grandement influencée par l'âge du mâle comme de la femelle (Muller et al., 2016a; Torres-Vila et al., 2002). En conséquence, une perception plus dynamique des effets de la température sur la reproduction pourrait s'avérer intéressante, en incluant la manière dont la température conditionne l'intensité du déclin de la performance sexuelle avec l'âge, le nombre potentiel d'accouplements que peut solliciter un mâle et la qualité du spermatophore délivré à chaque accouplement, ainsi que les conséquences pour la femelle fécondée.

1.3. Évolution de la dynamique trophique entre le ravageur et ses ennemis naturels

1.3.1. Cas du parasitisme larvaire : quelles conséquences de la température sur la susceptibilité des chenilles face à leurs parasitoïdes ?

En examinant les réponses des différentes barrières défensives des chenilles d'eudémis à plusieurs simulations expérimentales du réchauffement climatique, il est possible d'inférer la vulnérabilité future de ces larves face à leurs parasitoïdes et l'évolution de la dynamique de l'interaction entre ces deux niveaux trophiques. Bien que les réponses demeurent complexes et, pour certains traits comme les comportements, spécifiques de la méthode choisie pour simuler le réchauffement, des tendances générales semblent toutefois se dessiner.

La première est celle d'un raccourcissement de la durée du développement larvaire à mesure que la température moyenne augmente, dans le système constant du Chapitre III (Manuscrit 1) comme dans celui fluctuant du Chapitre IV (Manuscrits 2 et 3), susceptible de résulter en une réduction de la fenêtre temporelle de vulnérabilité des chenilles d'eudémis face à leurs parasitoïdes larvaires. Cependant, conclure à une

résistance accrue des chenilles par diminution de la durée d'exposition à leurs ennemis naturels se révèle prématuré à cette étape, car la réponse du parasitoïde à une augmentation de température implique, elle aussi, une accélération du développement à l'intérieur du corps de l'hôte (Duan et al., 2018; Noor-ul-Ane et al., 2017; Schreven et al., 2017). Il a été suggéré que cette plasticité développementale du parasitoïde peut lui permettre de maintenir la synchronisation de son cycle biologique avec l'hôte lorsque les deux antagonistes sont exposés à des températures en augmentation (Hance et al., 2007; Jeffs and Lewis, 2013; Klapwijk et al., 2010). Le développement du parasitoïde présente cependant une sensibilité thermique propre, distincte de celle de son hôte. Dans une méta-analyse, Furlong and Zalucki (2017) ont ainsi démontré que le développement des parasitoïdes se caractérisait par un optimum thermique et une amplitude de tolérance thermique inférieurs à ceux de leur hôte. Ces conclusions amènent à penser que, dans un scénario d'augmentation de température moyenne et de fluctuations thermiques, la capacité du parasitoïde à préserver un degré de synchronisation avec le développement de son hôte peut se trouver rapidement limitée, car l'optimum thermique pour le développement du parasitoïde risque d'être dépassé avant celui de l'hôte (Furlong and Zalucki, 2017; Wetherington et al., 2017). Par ailleurs, si les études des Chapitres III et IV convergent vers la conclusion que la durée du développement des chenilles devrait être raccourcie par le réchauffement, le Chapitre V (Manuscrit 5) amène à nuancer quelque peu ce constat, puisque la vague de chaleur a provoqué des effets négatifs sur le développement larvaire (plus faible taux de métamorphose des chenilles au bout de 14 jours). Ces résultats, couplés à l'effet négatif généralisé de la vague de chaleur sur les trois effecteurs immunitaires quantifiés dans les analyses immunologiques (voir le paragraphe suivant), suggèrent que des événements thermiques extrêmes peuvent avoir des répercussions négatives persistantes sur les capacités de résistance des chenilles d'eudémis face à leurs parasitoïdes, et ainsi occasionner de forts taux de parasitisme larvaire au sein des populations du ravageur.

La seconde conclusion robuste entre les différentes études renvoie aux effets négatifs de l'augmentation des températures sur la plupart des paramètres immunitaires examinés. Cette diminution de l'immunocompétence atteignait par exemple 34%, dans le cas de l'activité totale de la phénoloxidase, en comparant les deux régimes fluctuants du Chapitre IV (Manuscrit 2). Au-delà des effets provoqués

par l'augmentation de température moyenne et mis en évidence dans les Chapitres III et IV (Manuscrits 1 et 2), il est également important de souligner l'effet négatif généralisé de la vague de chaleur du Chapitre V (Manuscrit 5) sur les différents paramètres immunitaires pris en considération. En effet, par rapport au témoin (régime fluctuant le plus chaud du Chapitre IV), la vague de chaleur a causé une réduction significative de la charge hémocytaire (-14%), l'activité de la phénoloxidase (-22%) et l'activité totale de la phénoloxidase (-21%). Le déclin de l'activité du système phénoloxidase/prophénoloxidase pourrait s'expliquer par l'effet négatif de la température sur la charge hémocytaire, la viabilité des hémocytes, ou encore une modulation thermique des proportions relatives des différentes classes hémocytaires naturellement présentes dans l'hémolymphe et impliquées à parts inégales dans la production et la libération de la phénoloxidase (voir ci-dessous).

De tels résultats obtenus sur l'immunité basale (sans parasitisme) interrogent sur les conséquences associées d'un point de vue fonctionnel, c'est-à-dire en termes de capacité des chenilles à tuer un œuf de parasitoïde. Dans le cas des relations hôte-parasitoïde, une corrélation hautement positive ($r = 0.95$) et significative a été observée entre le niveau basal des paramètres immunitaires de l'hôte et sa résistance effective face au parasitoïde (capacité d'encapsulation des œufs du parasitoïde) (Eslin and Prévost, 1998). Ceci implique qu'une diminution de l'immunité basale de l'hôte peut s'accompagner d'une réduction de ses capacités de défense potentielle face à une attaque de parasitoïde. Cette hypothèse est d'autant plus envisageable dans le cas de *L. botrana*, espèce chez laquelle les chenilles expriment naturellement des hauts niveaux d'immunité basale, mais ne semblent toutefois pas capables d'élever plastiquement cette immunité en réponse à une infection (Vogelweith et al., 2014) ou à la détection d'un parasitoïde larvaire présent dans l'environnement (Vogelweith et al., 2017). Les résultats obtenus au cours des différentes études des Chapitres III, IV et V (Manuscrits 1, 2 et 5) semblent donc indiquer que le réchauffement pourrait accentuer la susceptibilité des chenilles d'eudémis au parasitisme via altération de leur fonction immunitaire. La mesure dans laquelle ces conclusions peuvent s'appliquer au milieu naturel, dans une perspective évolutive, est encore incertaine. En effet, dans les agroécosystèmes, la pression de parasitisme exercée par les parasitoïdes larvaires constitue une force sélective majeure modulant l'immunité des chenilles : les zones enregistrant les taux de parasitisme larvaire les plus élevés sont aussi celles où les

chenilles investissent le plus dans leur immunité (Vogelweith et al., 2013b). De par ses effets immunosuppressifs, le réchauffement climatique pourrait donc sérieusement limiter la capacité des chenilles à répondre à d'importantes pressions de parasitisme et ainsi accentuer la pression de sélection appliquée par les parasitoïdes sur les populations du ravageur. Ceci pourrait conduire à une perturbation de la dynamique de l'interaction résultant de la coévolution entre ces deux niveaux trophiques.

Plusieurs pistes de recherche sont à approfondir afin de prédire plus finement la réponse du complexe hôte-parasitoïde au réchauffement. Il a par exemple été démontré qu'au niveau intraspécifique, la résistance de populations naturelles d'hôtes à leurs parasitoïdes pouvait être davantage expliquée par les abondances relatives des différents types hémocytaires présents dans l'hémolymphe que par la simple charge en hémocytes, qui demeure une métrique synthétique (Gerritsma et al., 2013). Des mesures plus qualitatives de l'immunité des chenilles (permettant de discerner les types hémocytaires et quantifier l'évolution de leurs proportions relatives dans l'hémolymphe en lien avec la température) pourraient donc se révéler particulièrement pertinentes. Des résultats préliminaires, obtenus récemment dans le cadre de cette thèse, ont permis de distinguer quatre types hémocytaires différents chez les larves d'eudémis (prohémocytes, granulocytes, plasmatocytes et oenocytoïdes), et des analyses statistiques sont actuellement conduites dans le but de savoir si les abondances relatives de ces différentes populations hémocytaires varient en lien avec la température environnementale connue par les chenilles au cours de leur développement. De plus, il est à considérer que la pression de parasitisme exercée par les parasitoïdes larvaires sur les populations d'hôtes est dynamique et potentiellement modulable par la température, car celle-ci influence notamment la longévité du parasitoïde et son activité de recherche d'hôtes d'un côté (Denis et al., 2011; Henri et al., 2012; Moiroux et al., 2016), de même que sa capacité à neutraliser les défenses immunitaires de l'hôte (via injection d'un agent viral) de l'autre (Seehausen et al., 2017a). Ce dernier point concerne surtout les espèces de la famille des Ichneumonidae et des Braconidae, dont certaines ont été identifiées comme des parasitoïdes majeurs des chenilles de *L. botrana* en milieu naturel (Scaramozzino et al., 2017; Scaramozzino et al., 2018). En conclusion, des mesures plus fonctionnelles et qualitatives de l'immunité des chenilles, couplées à l'examen de la réponse de l'ensemble du complexe hôte-parasitoïde à une hausse des températures (pour des

exemples avec des régimes thermiques fluctuants, voir Bahar et al., 2012; Delava et al., 2016), semblent indispensables afin de dresser un portrait plus réaliste des conséquences du réchauffement pour la dynamique trophique entre les chenilles d'eudémis et leurs ennemis naturels.

1.3.2. Cas du parasitisme des œufs : comment le réchauffement pourrait-il affecter l'efficacité des parasitoïdes oophages en tant qu'agents de lutte biologique contre l'eudémis ?

Le Chapitre IV (Manuscrit 4) a révélé que la température, au travers d'effets perceptibles à l'échelle de deux générations successives d'hôtes, n'agissait pas sur le nombre d'œufs hôtes parasités par le trichogramme, mais affectait négativement le taux d'émergence de ce parasitoïde oophage. Ce dernier résultat est probablement expliqué par une réduction de la qualité nutritive des œufs hôtes et/ou une élévation de leur immunité lorsque la génération produisant ces œufs était élevée dans le régime le plus chaud. L'espèce de parasitoïde utilisée dans cette expérience (*T. cacoeciae*) se présente comme un candidat potentiel pour la lutte biologique contre *L. botrana*, en particulier au travers de méthodes de lâchers inondatifs dans les champs (Barnay et al., 1999; Hommay et al., 2002). À cet égard, les résultats obtenus dans le Chapitre IV conduisent à penser que le réchauffement climatique pourrait diminuer l'abondance du parasitoïde oophage au fil des générations après sa libération dans les vignobles (du fait de taux d'émergence plus faibles), ce qui risquerait d'amoindrir la durabilité dans le temps du contrôle exercé par cet insecte auxiliaire sur les populations du ravageur.

Cependant, l'efficacité d'un programme de lutte biologique par inondation n'est pas tant définie par sa pérennité dans le temps (conditionnée par l'accomplissement de l'intégralité du cycle de développement de l'agent de lutte), mais surtout par les taux de mortalité du ravageur que cet auxiliaire est capable d'induire sur le court terme, peu de temps après son introduction dans l'agroécosystème (Abram et al., 2016; Abram et al., 2019; Stinner, 1977). Dans cette perspective, les résultats ne semblent pas indiquer d'effet du réchauffement sur la mortalité apparente des œufs d'eudémis provoquée par parasitisme (même nombre d'œufs parasités entre les traitements thermiques). En se focalisant sur les œufs noircis (c'est-à-dire les œufs parasités et à

l'intérieur desquels le trichogramme est parvenu à survive au moins jusqu'à la pupaison), la métrique de parasitisme utilisée dans le Chapitre IV tend toutefois à omettre la mortalité des œufs hôtes induite par la ponte du trichogramme, sans que ce dernier ne parvienne à se développer jusqu'au stade de pupe. Il n'est donc pas possible pour le moment de quantifier la mortalité totale effectivement provoquée par l'action du parasitoïde sur les œufs d'eudémis et sa modulation par la température. Des suivis de ponte des trichogrammes et du devenir des œufs hôtes effectivement parasités peuvent se révéler nécessaires afin d'appréhender les effets de la température sur l'efficacité réelle du contrôle biologique basé sur l'utilisation de parasitoïdes oophages.

2. PERSPECTIVES DE RECHERCHE FUTURES POUR UNE MEILLEURE COMPRÉHENSION DES CONSÉQUENCES DU RÉCHAUFFEMENT SUR LES RAVAGEURS : L'EXEMPLE D'EUDÉMIS

L'originalité de cette thèse a été de conjuguer des approches tenant compte à la fois de la diversité de métriques biologiques pouvant être intégrées en tant qu'estimateurs de la performance (nombreux traits d'histoire de vie étudiés) et de la complexité des modifications thermiques inhérente au changement climatique (plusieurs méthodes de simulation du réchauffement utilisées). Ce faisant, elle a permis de dresser un portrait relativement réaliste, mais complexe, des conséquences du réchauffement sur un ravageur, de la performance individuelle à la dynamique des populations et des interactions avec les niveaux trophiques associés.

Les différentes études conduisent à des résultats et des conclusions avec une résonance certaine dans une perspective appliquée de prédiction des impacts du réchauffement sur les ravageurs des cultures. À cet égard, les Chapitres III (Manuscrit 1) et IV (Manuscrit 2) ont souligné l'importance de considérer les réponses thermiques de plusieurs traits défensifs pour inférer l'évolution de la résistance d'un hôte larvaire à ses parasitoïdes. Toujours dans le contexte des relations hôte-parasitoïde, le Chapitre IV (Manuscrit 4) a également démontré des voies d'action nouvelles, jusqu'alors jamais caractérisées, de la température sur la susceptibilité des œufs du ravageur vis-à-vis d'un parasitoïde oophage. Ces effets thermiques sur le devenir de l'interaction hôte-parasitoïde, perceptibles à l'échelle de deux générations successives

d'hôtes, doivent donc être pris en considération dans le but de prédire les répercussions du réchauffement climatique pour la dynamique trophique entre les ravageurs et leurs ennemis naturels (Furlong and Zalucki, 2017; Harvey, 2015; Thomson et al., 2010). Les résultats obtenus quant aux effets de la température sur le potentiel de reproduction des deux partenaires dans le Chapitre IV (Manuscrit 3) illustrent, une fois de plus, la grande sensibilité des traits sexuels mâles aux conditions environnementales et soulignent l'intérêt de la considération de la performance sexuelle du mâle comme composante déterminante du succès de reproduction et de la dynamique démographique des ravageurs (Ferguson et al., 2005; Muller, 2016; Rankin and Kokko, 2007). Enfin, si les résultats du Chapitre V (Manuscrit 5) viennent confirmer les effets néfastes des vagues de chaleur sur plusieurs traits d'histoire de vie du ravageur, ils démontrent aussi que l'existence de ces effets est conditionnée par les conditions écologiques (stade de vie affecté, qualité de la nourriture disponible pour le ravageur après le stress thermique) dans lesquelles la vague de chaleur s'opère. Ainsi, une meilleure prise en compte de la manière dont la biologie et l'écologie de l'espèce d'étude peuvent modeler sa réponse aux vagues de chaleur s'avère indispensable dans une optique de prédiction des conséquences de ces événements thermiques extrêmes sur les dynamiques démographiques des ravageurs (Robinet et al., 2013; Zhao et al., 2019).

Au-delà de ces principales découvertes combinant un intérêt fondamental et appliqué, trois autres pistes de recherche peuvent être identifiées pour une connaissance plus détaillée des impacts du réchauffement sur les insectes ravageurs et une meilleure compréhension des implications en termes de dynamique populationnelle et de dégâts futurs sur les cultures.

2.1. L'augmentation de la résolution spatiale pour prédire l'évolution des conditions thermiques réellement rencontrées par les insectes : vers une conception microclimatique de l'environnement

L'un des aspects les plus novateurs développés au cours de cette thèse a été de baser les régimes thermiques appliqués au ravageur sur des projections dérivées de modèles climatiques, permettant ainsi de simuler une évolution réaliste du climat à une échelle locale (résolution spatiale égale à 8 km). Dans le Chapitre IV (Manuscrits 2 et

3), cette méthode expérimentale d'imitation du réchauffement a permis d'examiner la réponse des chenilles et des adultes de *L. botrana* à des changements réalistes se produisant au niveau de deux caractéristiques du cycle thermique journalier : l'augmentation de température moyenne (+5.3°C) et de l'amplitude des fluctuations quotidiennes de température (+0.6°C). Une telle démarche, combinant les domaines d'expertise de la climatologie et de l'écologie, répond au besoin grandissant pour les études en écologie d'examiner la réponse des organismes à des modifications thermiques riches de sens d'un point de vue climatologique comme écologique (Helmuth et al., 2014; Potter et al., 2013; Thompson et al., 2013). Bien que le recours à la modélisation climatique ait été rapidement identifié comme une solution pertinente à ce défi majeur (Harris et al., 2014; Sofaer et al., 2017), son utilisation a jusqu'alors été principalement limitée aux études basées sur une approche de modélisation de la dynamique des populations des ravageurs (Jakoby et al., 2019; Ziter et al., 2012). Cette approche de modélisation requière pourtant une compréhension mécanistique de la manière dont les traits d'une espèce d'intérêt peuvent répondre à une simulation réaliste du réchauffement, ce qui peut être acquis au travers d'études à vocation expérimentale. Ceci souligne l'importance de l'incorporation de projections climatiques réalistes et pertinentes dans les études de laboratoire. Ainsi, l'utilisation de modèles climatiques régionaux pour permettre de simuler l'évolution du climat à une échelle locale se présente comme un progrès notable dans le but d'examiner la manière dont les insectes peuvent répondre à des changements de température se produisant au niveau de leur environnement immédiat.

Toutefois, en dépit de l'amélioration de la résolution spatiale des prédictions climatiques associée à l'utilisation de modèles climatiques régionaux, il subsiste une discordance importante entre l'échelle spatiale à laquelle les données météorologiques sont collectées et simulées (celle des phénomènes climatiques) et la taille corporelle de l'organisme étudié (Potter et al., 2013). Ce contraste est encore plus marqué pour les espèces d'insectes, dont l'environnement thermique direct se définit davantage comme une mosaïque de conditions microclimatiques plutôt qu'un macroclimat modelé par des processus météorologiques à large échelle (Potter et al., 2013; Terblanche et al., 2015). Dans le contexte du réchauffement climatique, cette perception microclimatique de l'environnement thermique des insectes interroge sur plusieurs aspects.

Tout d'abord, l'évolution des conditions microclimatiques en lien avec le réchauffement ne peut être prédite avec la puissance des modèles climatiques actuels. La compréhension de ce phénomène requiert davantage une considération et des données précises sur la biologie et l'écologie de l'organisme étudié. Ceci est particulièrement vrai dans le cas des insectes phytophages ravageurs des cultures, car ces derniers vivent dans des environnements microclimatiques façonnés par leur interaction avec la plante hôte (Kaspari, 2019; Pincebourde and Casas, 2019). Il a par exemple été très récemment démontré que le mode d'alimentation des espèces d'une communauté d'insectes phytophages vivant dans la phyllosphère (à la surface des feuilles) influençait grandement la conductance stomatale des feuilles et ainsi les conditions microclimatiques de la couche d'air constituant l'environnement thermique direct de ces organismes. En retour, ces conditions microclimatiques modelées par l'interaction entre l'insecte et la plante expliquaient la sensibilité du phytophage aux températures élevées (Pincebourde and Casas, 2019). Ces résultats suggèrent que la vulnérabilité des ravageurs au réchauffement climatique s'explique davantage par l'environnement microclimatique dans lequel ces espèces évoluent que les processus macroclimatiques opérant à des échelles de temps et d'espace plus larges (Pincebourde and Casas, 2015; Pincebourde and Casas, 2019). À une échelle spatiale aussi fine, il apparaît ainsi que le réchauffement climatique puisse agir indirectement sur les microclimats et leur distribution dans l'espace en modifiant la physiologie de la plante, du ravageur, et leur interaction. L'examen de l'importance de ces effets indirects pourrait permettre une meilleure compréhension des conséquences du réchauffement sur les ravageurs dans leur environnement microclimatique. En prenant l'exemple d'eudémis, il existe un contraste thermique non négligeable (de l'ordre de plusieurs degrés Celsius) entre la peau et la pulpe, plus chaude car accumulant l'énergie thermique, des baies de raisins (Moffat, 2013). Dans quelle mesure la perforation des baies par les chenilles d'eudémis peut-elle influer sur les conditions thermiques à l'échelle d'un glomérule ? Si le réchauffement climatique augmente la prise alimentaire de ces chenilles, comme cela est attendu pour beaucoup d'espèces de ravageurs (Jamieson et al., 2012), quelles peuvent en être les conséquences au niveau des microclimats directement subis par l'insecte ?

Par ailleurs, l'existence d'un gradient de conditions thermiques à une échelle spatiale en accordance avec la taille corporelle des insectes suggère l'importance de la thermorégulation dans la réponse des ravageurs au réchauffement climatique (Kearney et al., 2009; Ma et al., 2018b; Woods et al., 2015). Ceci questionne sur la mesure dans laquelle les insectes sont capables d'exploiter une hétérogénéité spatiale de conditions microclimatiques, afin de maintenir leur température corporelle dans les limites imposées par leur tolérance thermique (Ma et al., 2018b; Woods et al., 2015). Il se pose aussi la question de savoir comment le réchauffement peut remodeler cette mosaïque spatiale de conditions microclimatiques, et quelles peuvent en être les conséquences pour l'efficacité des comportements de thermorégulation exprimés par les insectes (Caillon et al., 2014). Prédire la manière dont une espèce peut exploiter une diversité de sites aux conditions microclimatiques contrastées pour éviter l'exposition à des températures stressantes nécessite des connaissances précises sur la biologie de cette espèce. En considérant l'exemple d'eudémis, il semblerait que les larves disposent de capacités de thermorégulation relativement limitées du fait de leur confinement à l'intérieur du glomérule, bien que le degré d'hétérogénéité spatiale des températures à l'intérieur de ce glomérule demande à être évalué. En revanche, le comportement de ponte des femelles, plus particulièrement le choix du site pour l'établissement futur des larves, semble un facteur important à prendre en compte pour déterminer la sensibilité de l'espèce au réchauffement (Kiaeian Moosavi et al., 2018). Une piste de recherche potentiellement intéressante serait d'identifier la manière dont l'hétérogénéité des températures à la surface d'une baie (par exemple en lien avec son exposition au soleil) peut affecter le choix des sites de ponte des femelles, et si ce choix est sujet à l'influence de la température environnementale.

Enfin, il est à noter que les différents stades de vie constitutifs du cycle biologique des ravageurs n'ont pas la même sensibilité à la température, les mêmes capacités de déplacement d'un microclimat à un autre, et ne partagent pas les mêmes habitats et environnements microclimatiques (Kingsolver et al., 2011; Potter et al., 2013; Woods et al., 2015). La performance de l'individu peut-elle alors se définir comme une métrique composite dépendante des conditions microclimatiques connues par chaque stade de vie, ou bien est-elle majoritairement influencée par les températures connues par un stade bien particulier ? L'exemple d'eudémis semble particulièrement illustratif des différences de sensibilité thermique pouvant exister

entre les stades immatures (peu mobiles, vivant dans des milieux relativement confinés comme les glomérules) et adultes (plus grandes capacités de dispersion, en milieu plus ouvert). Ainsi, appliquer des régimes thermiques dont les caractéristiques (température moyenne, variabilité thermique) sont susceptibles de varier au cours de l'ontogénie de l'insecte pourrait se révéler pertinent dans le but de retranscrire plus fidèlement la succession de conditions thermiques dans le temps auxquelles l'organisme se retrouve confronté au cours de son développement. Le même constat pourrait aussi s'appliquer pour les interactions trophiques, plus particulièrement les relations hôte-parasitoïde, car (i) les deux organismes peuvent occuper des habitats microclimatiques différents et (ii) dans certains cas, le parasitoïde peut influer sur le comportement de son hôte et sa sélection de microsites (Hance et al., 2007).

2.2. L'importance du rôle joué par la plante hôte dans la réponse du ravageur au changement climatique

Si cette thèse a permis de caractériser la grande diversité d'effets directs de la température sur les traits d'histoire de vie d'eudémis et son interaction avec les parasitoïdes, elle a cependant occulté le rôle médiateur que peut jouer la plante hôte dans la réponse de ce ravageur à la température. Chez d'autres espèces de Lépidoptères, la relation entre la masse du ravageur et la température peut être complètement inversée selon la nature de la plante hôte et donc la valeur nutritive (rapport carbone/azote, concentration en composés secondaires…) des tissus végétaux ingérés par l'insecte (Diamond and Kingsolver, 2010). De la même manière, la plante hôte peut moduler l'amplitude de tolérance thermique du ravageur, et ainsi déterminer sa sensibilité au changement climatique (Kleynhans et al., 2014). Chez le foreur africain de la canne à sucre par exemple (*Eldana saccharina*), les chenilles s'étant développées sur la canne à sucre comme plante hôte présentent des températures critiques minimale et maximale inférieures à celles de larves ayant effectué leur développement sur du papyrus, suggérant une tolérance à la chaleur plus faible pour les premières (Kleynhans et al., 2014). De tels résultats amènent à penser que les effets de la plante hôte et de la température sur les ravageurs ne sont pas simplement additifs, mais plutôt interactifs et donc plus difficiles à prédire (Clissold and Simpson, 2015). Ce lien étroit existant entre qualité de l'alimentation et réponse à la température chez les insectes phytophages peut s'expliquer par les impacts de la

température sur les taux métaboliques, les besoins énergétiques et nutritionnels de l'insecte (Clissold and Simpson, 2015; Lee and Roh, 2010; Triggs and Knell, 2012). Un tel lien est apparu évident dans le Chapitre V (Manuscrit 5), qui a démontré que la valeur nutritive du milieu artificiel fourni aux chenilles après une vague de chaleur influençait d'une manière assez complexe leur sensibilité vis-à-vis de ce stress thermique. L'explication de ce phénomène était probablement énergétique, au regard des effets majeurs de la qualité de la nourriture sur les réserves des chenilles observés. Bien que la variabilité de qualité nutritive incorporée dans cette étude (engendrée via l'utilisation de deux milieux artificiels) soit probablement plus forte que la variabilité naturelle pouvant être observée entre cépages de vigne, cette étude ouvre des pistes de réflexion potentiellement intéressantes quant aux effets de la température sur la relation plante-insecte.

En particulier, elle questionne sur la manière dont cépage et température peuvent interagir pour affecter la performance des larves et adultes d'eudémis. D'un point de vue appliqué, de telles informations permettraient, de concert avec le recours aux modèles climatiques régionaux, une meilleure spatialisation des prédictions faites quant à la réponse d'eudémis au réchauffement climatique. En effet, les différentes zones viticoles se distinguent souvent par la nature et les proportions des différents cépage cultivés (Fraga et al., 2016; Seguin and Garcia de Cortazar, 2005; Wilson, 1998). Ainsi, intégrer la variabilité de la relation entre température et fonctions physiologiques d'eudémis (développement, survie, fécondité…) pour différents cépages permettrait d'augmenter la fiabilité des prédictions faites quant à la réponse de ce ravageur au changement climatique dans un territoire viticole donné. Cette approche pourrait être couplée à des modèles de dynamique de distribution des différents cépages en lien avec le réchauffement climatique afin de retranscrire plus fidèlement les conditions écologiques (cépages disponibles) futures pouvant être rencontrées par l'eudémis en une zone viticole donnée (Fraga et al., 2016).

Par ailleurs, l'examen de l'importance de l'interaction entre plante hôte et température prend également tout son sens dans un contexte de relation hôte-parasitoïde. Un tel effet interactif a déjà été observé au niveau du complexe impliquant les larves de la teigne des crucifères (*Plutella xylostella*) et le parasitoïde larvaire *Diadegma semiclausum* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Cet effet était notamment perceptible sous des hautes températures constantes (25-30°C), pour lesquelles

certains d'histoire de vie du parasitoïde (survie pupale, développement) était alors grandement influencé par la plante hôte de laquelle s'était nourri l'hôte (Dosdall et al., 2012). Ces résultats soulignent l'aspect médiateur crucial que peut jouer la plante hôte dans la réponse d'une interaction hôte-parasitoïde au réchauffement climatique. Un tel phénomène pourrait-il être observé en milieu viticole, dans le cas de l'interaction entre l'eudémis et ses parasitoïdes ? Des informations existent quant aux effets simples de la température (Chapitre IV, Manuscrit 4) et de la plante hôte (cépage de vigne) sur le devenir de l'interaction (taux de parasitisme, taux d'émergence du parasitoïde) entre les œufs d'eudémis et les parasitoïdes oophages du genre *Trichogramma* (Moreau et al., 2009; Thiéry and Desneux, 2018). Toutefois, ces effets n'ont jamais été évalués simultanément, afin de tester la possible existence d'une interaction entre ces deux facteurs environnementaux sur la résistance des œufs du ravageur face au parasitoïde. De telles informations pourraient se révéler intéressantes dans le but de développer les connaissances sur la manière dont le réchauffement climatique peut altérer la pression de sélection exercée par les parasitoïdes sur les populations d'hôte, ainsi que sur l'évolution de l'efficacité des programmes de contrôle biologique reposant sur l'utilisation de ces organismes en tant qu'auxiliaires de lutte contre l'eudémis.

2.3. Au-delà d'une seule génération : considérer plusieurs mécanismes plastiques et évolutifs mis en jeu dans la réponse d'eudémis au réchauffement climatique

Presque toutes les études réalisées au cours de cette thèse se sont exclusivement intéressées à la manière dont la température pouvait affecter l'expression plastique des traits d'eudémis à l'échelle d'une génération (plasticité phénotypique intragénérationnelle). Sur ce point, l'étude conduite sur l'interaction entre les œufs d'eudémis et le parasitoïde oophage fait toutefois figure d'exception (Chapitre IV, Manuscrit 4). En évaluant la manière dont la température connue par une génération pouvait affecter la performance de sa descendance (résistance face au trichogramme) sous différentes conditions thermiques, cette étude s'est portée sur la plasticité phénotypique transgénérationnelle. L'intérêt porté à cette forme de plasticité par les études en écologie placées dans le contexte du changement climatique est relativement récent (pour des revues sur le sujet, voir Donelson et al., 2018; Sgrò et

al., 2016). La plasticité transgénérationnelle pourrait jouer un rôle non négligeable dans la réponse des insectes au réchauffement, notamment en limitant ses effets négatifs immédiats sur les individus (Chirgwin et al., 2018; Donelson et al., 2018).

En suggérant que la température connue par la génération parentale puisse affecter la susceptibilité des œufs pondus par cette génération face aux attaques du parasitoïde, l'étude conduite dans le Chapitre IV suscite certaines interrogations pouvant être l'objet de perspectives de recherche futures. Dans quelle mesure les effets parentaux observés peuvent-ils persister à l'échelle des différents stades de vie de la descendance ? Par exemple, les conditions thermiques connues par la génération parentale d'eudémis peuvent-elles altérer la manière dont les chenilles (voire les adultes) de la génération suivante répondent à la température ? Si tel est le cas, cette plasticité transgénérationnelle peut-elle avoir une valeur adaptative ? Cela peut être le cas si, par exemple, les conditions thermiques connues par les deux générations successives interagissent pour affecter la performance de la descendance. Ainsi, cette descendance présenterait une performance plus importante si les conditions thermiques qu'elles rencontrent sont similaires à celles connues par la génération parentale de laquelle elle est issue (pour des exemples chez les insectes, voir Geister et al., 2009; Tran et al., 2019; Zizzari and Ellers, 2014). Un tel phénomène pourrait contribuer à atténuer les effets négatifs de l'augmentation de température moyenne et des vagues de chaleur observés sur certains traits au cours des expériences de cette thèse (immunité des chenilles, performance sexuelle des adultes) et ainsi avoir des implications majeures quant à la capacité du ravageur à supporter le réchauffement climatique.

Dans une optique de prédiction de la réponse du ravageur au changement climatique, un défi majeur est de savoir dans quelle mesure les résultats obtenus sur des souches de laboratoire peuvent s'extrapoler aux populations naturelles, dont la sensibilité à la température est placée sous l'emprise de la sélection s'opérant à l'échelle de plusieurs générations. À ce titre, des échantillonnages de populations naturelles sur le terrain, selon un gradient spatial (latitudinal) de température, pourraient se révéler pertinents dans le but d'identifier la manière dont l'espèce peut répondre à des changements thermiques, comme ceux liés au réchauffement climatique, dans une perspective évolutive (méthode de substitution du temps par l'espace, Blois et al., 2013). Une difficulté inhérente à cette approche de terrain serait

de parvenir à isoler l'effet de la température de l'environnement de celui des autres forces sélectives (notamment la nature du cépage et la pression de parasitisme appliquée par le niveau trophique supérieure) agissant *in natura* sur les populations d'eudémis (Vogelweith et al., 2013b). Considérant la forte variabilité spatiale en termes de cépages cultivés et de taux de parasitisme larvaire (Vogelweith et al., 2013b), une solution pourrait consister à définir le gradient latitudinal de température au sein d'une même région viticole présentant un certain degré d'hétérogénéité des températures dans l'espace. Des comparaisons directes de performance larvaire (ex : investissement dans l'immunité, budgets énergétiques) entre populations de ce transect d'échantillonnage pourraient alors se révéler informatives de la manière dont les conditions thermiques prévalant *in natura* peuvent agir en tant que force sélective sur les populations d'eudémis. Une autre possibilité serait d'appliquer, au laboratoire, des traitements thermiques différents aux individus récoltés sur le terrain, dans le but d'évaluer dans quelle mesure l'adaptation préalable à des conditions thermiques données peut influer sur l'expression de réponses plastiques à la température. Ces données constitueraient une mise en perspective appréciable par rapport aux résultats obtenus avec la souche artificielle utilisée au cours des différentes expériences de cette thèse, permettant d'approfondir la compréhension des mécanismes plastiques et évolutifs mis en jeu dans la réponse d'eudémis au changement climatique.

3. CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans le contexte du changement climatique, cette thèse donne un aperçu global de la manière dont différentes facettes de ce phénomène complexe peuvent affecter l'expression plastique d'un ensemble large de traits d'histoire de vie chez un ravageur des cultures, l'eudémis de la vigne. Ce travail contribue à densifier la littérature décrivant la sensibilité thermique des différentes fonctions vitales chez ce ravageur (voir Gutierrez et al., 2012), et permet de formuler des prédictions relativement intégratives, mais complexes, quant à la réponse de l'espèce au réchauffement climatique. Les résultats obtenus au cours de cette thèse ont également une résonance scientifique dépassant le simple cadre du modèle biologique, puisqu'ils soulignent l'importance de plusieurs considérations (approche multi-trait, sensibilité thermique de la performance sexuelle du mâle, rôle de la plasticité

transgénérationnelle dans les relations trophiques hôte-parasitoïde, importance du stade de vie affecté et de la qualité de l'alimentation dans la réponse à une vague de chaleur) pouvant être incorporées et développées dans des études futures portant sur les conséquences écologiques du réchauffement climatique.

Références bibliographiques

Abram, P. K., Brodeur, J., Burte, V. and Boivin, G. (2016). Parasitoid-induced host egg abortion: an underappreciated component of biological control services provided by egg parasitoids. *Biol. Control* **98**, 52–60.

Abram, P. K., Boivin, G., Moiroux, J. and Brodeur, J. (2017). Behavioural effects of temperature on ectothermic animals: unifying thermal physiology and behavioural plasticity. *Biol. Rev.* **92**, 1859–1876.

Abram, P. K., Brodeur, J., Urbaneja, A. and Tena, A. (2019). Nonreproductive effects of insect parasitoids on their hosts. *Annu. Rev. Entomol.* **64**, 259–276.

Anderson, G. B. and Bell, M. L. (2011). Heat waves in the United States: mortality risk during heat waves and effect modification by heat wave characteristics in 43 U.S. communities. *Environ. Health Perspect.* **119**, 210–218.

Angilletta, M. J., Huey, R. B. and Frazier, M. R. (2010). Thermodynamic effects on organismal performance: is hotter better? *Physiol. Biochem. Zool.* **83**, 197–206.

Babi, A. (1990). Bioécologie de T*richogramma cacoeciae* Marchal et *T. daumalae* Dugats et Voegele (Hym. Trichogrammatidae) : utilisation en lutte biologique contre *Lobesia Botrana* Den. et Schief. (Lep. Tortricidae).

Bahar, M. H., Soroka, J. J. and Dosdall, L. M. (2012). Constant versus fluctuating temperatures in the interactions between *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and its larval parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Environ. Entomol.* **41**, 1653–1661.

Bale, J. S., Masters, G. J., Hodkinson, I. D., Awmack, C., Bezemer, T. M., Brown, V. K., Butterfield, J., Buse, A., Coulson, J. C., Farrar, J., et al. (2002). Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Glob. Chang. Biol.* **8**, 1–16.

Bannerman, J. A., Gillespie, D. R. and Roitberg, B. D. (2011). The impacts of extreme and fluctuating temperatures on trait-mediated indirect aphid-parasitoid interactions. *Ecol. Entomol.* **36**, 490–498.

Barnay, O., Pizzol, J., Gertz, C., Kienlen, J. C., Hommay, G. and Lapchin, L. (1999). Host density-dependence of discovery and exploitation rates of egg patches of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Ephestia kuehniella*

(Lepidoptera: Pyralidae) by the parasitoid *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *J. Econ. Entomol.* **92**, 1311–1320.

Barnay, O., Hommay, G., Gertz, C., Kienlen, J. C., Schubert, G., Marro, J. P., Pizzol, J. and Chavigny, P. (2001). Survey of natural populations of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) in the vineyards of Alsace (France). *J. Appl. Entomol.* **125**, 469–477.

Bauerfeind, S. S. and Fischer, K. (2014). Simulating climate change: temperature extremes but not means diminish performance in a widespread butterfly. *Popul. Ecol.* **56**, 239–250.

Beetge, L. and Krüger, K. (2019). Drought and heat waves associated with climate change affect performance of the potato aphid *Macrosiphum euphorbiae*. *Sci. Rep.* **9**, 3645.

Bellard, C., Bertelsmeier, C., Leadley, P., Thuiller, W. and Courchamp, F. (2012). Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecol. Lett.* **15**, 365–377.

Bianchi, F. J. J., Booij, C. J. and Tscharntke, T. (2006). Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **273**, 1715–1727.

Blois, J. L., Zarnetske, P. L., Fitzpatrick, M. C. and Finnegan, S. (2013). Climate change and the past, present, and future of biotic interactions. *Science* **341**, 499–504.

Both, C., van Asch, M., Bijlsma, R. G., van den Burg, A. B. and Visser, M. E. (2009). Climate change and unequal phenological changes across four trophic levels: constraints or adaptations? *J. Anim. Ecol.* **78**, 73–83.

Boullis, A., Detrain, C., Francis, F., Verheggen, F. J., Koš, V. and Sinclair, B. J. (2016). Will climate change affect insect pheromonal communication? *Curr. Opin. Insect Sci.* **17**, 87–91.

Bowler, K. and Kashmeery, A. M. S. (1979). Recovery from heat injury in the blowfly, *Calliphora erythrocephala*. *J. Therm. Biol.* **4**, 197–202.

Bowler, K. and Terblanche, J. S. (2008). Insect thermal tolerance: what is the role of ontogeny, ageing and senescence? *Biol. Rev.* **83**, 339–355.

Bozinovic, F., Bastías, D. A., Boher, F., Clavijo-Baquet, S., Estay, S. A. and Angilletta, M. J. (2011). The mean and variance of environmental temperature interact to determine physiological tolerance and fitness. *Physiol. Biochem. Zool.* **84**, 543–552.

Bozinovic, F., Medina, N. R., Alruiz, J. M., Cavieres, G. and Sabat, P. (2016). Thermal tolerance and survival responses to scenarios of experimental climatic change: changing thermal variability reduces the heat and cold tolerance in a fly. *J Comp Physiol B* **186**, 581–587.

Braganza, K., Karoly, D. J. and Arblaster, J. M. (2004). Diurnal temperature range as an index of global climate change during the twentieth century. *Geophys. Res. Lett.* **31**, L13217.

Briere, J.-F. and Pracros, P. (1998). Comparison of temperature-dependent growth models with the development of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environ. Entomol.* **27**, 94–101.

Brook, B. W., Sodhi, N. S. and Bradshaw, C. J. A. (2008). Synergies among extinction drivers under global change. *Trends Ecol. Evol.* **23**, 453–460.

Caffarra, A., Rinaldi, M., Eccel, E., Rossi, V. and Pertot, I. (2012). Modelling the impact of climate change on the interaction between grapevine and its pests and pathogens: European grapevine moth and powdery mildew. *Agric. Ecosyst. Environ.* **148**, 89–101.

Cahill, A. E., Aiello-Lammens, M. E., Fisher-Reid, M. C., Hua, X., Karanewsky, C. J., Yeong Ryu, H., Sbeglia, G. C., Spagnolo, F., Waldron, J. B., Warsi, O., et al. (2013). How does climate change cause extinction? *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **280**, 20121890.

Caillon, R., Suppo, C., Casas, J., Woods, H. A. and Pincebourde, S. (2014). Warming decreases thermal heterogeneity of leaf surfaces: implications for behavioural thermoregulation by arthropods. *Funct. Ecol.* **28**, 1449–1458.

Carton, Y., Poirié, M. and Nappi, A. J. (2008). Insect immune resistance to parasitoids. *Insect Sci.* **15**, 67–87.

Castex, V., Beniston, M., Calanca, P., Fleury, D. and Moreau, J. (2018). Pest

management under climate change: the importance of understanding tritrophic relations. *Sci. Total Environ.* **616–617**, 397–407.

Catalán, T. P., Wozniak, A., Niemeyer, H. M., Kalergis, A. M. and Bozinovic, F. (2012). Interplay between thermal and immune ecology: effect of environmental temperature on insect immune response and energetic costs after an immune challenge. *J. Insect Physiol.* **58**, 310–317.

Cerenius, L. and Soderhall, K. (2004). The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunol. Rev.* **198**, 116–126.

Chen, I.-C., Hill, J. K., Ohlemüller, R., Roy, D. B. and Thomas, C. D. (2011). Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science.* **333**, 1024–1026.

Chevin, L.-M., Lande, R. and Mace, G. M. (2010). Adaptation, plasticity, and extinction in a changing environment: towards a predictive theory. *PLoS Biol.* **8**, e1000357.

Chirgwin, E., Marshall, D. J., Sgrò, C. M. and Monro, K. (2018). How does parental environment influence the potential for adaptation to global change? *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **285**, 20181374.

Chiu, M.-C., Kuo, J.-J. and Kuo, M.-H. (2015). Life stage-dependent effects of experimental heat waves on an insect herbivore. *Ecol. Entomol.* **40**, 175–181.

Clancy, K. M. and Price, P. W. (1987). Rapid herbivore growth enhances enemy attack: sublethal plant defenses remain a paradox. *Ecology* **68**, 733–737.

Clissold, F. J. and Simpson, S. J. (2015). Temperature, food quality and life history traits of herbivorous insects. *Curr. Opin. Insect Sci.* **11**, 63–70.

Colinet, H., Sinclair, B. J., Vernon, P. and Renault, D. (2015). Insects in fluctuating thermal environments. *Annu. Rev. Entomol.* **60**, 123–140.

Collins, M., An, S.-I., Cai, W., Ganachaud, A., Guilyardi, E., Jin, F.-F., Jochum, M., Lengaigne, M., Power, S., Timmermann, A., et al. (2010). The impact of global warming on the tropical Pacific Ocean and El Niño. *Nat. Geosci.* **3**, 391–397.

Cozzi, G., Pascale, M., Perrone, G., Visconti, A. and Logrieco, A. (2006). Effect of *Lobesia botrana* damages on black aspergilli rot and ochratoxin A content in grapes. *Int. J. Food Microbiol.* **111**, S88-S92.

David, G., Giffard, B., Piou, D., Roques, A. and Jactel, H. (2017). Potential effects of climate warming on the survivorship of adult *Monochamus galloprovincialis*. *Agric. For. Entomol.* **19**, 192–199.

Delava, E., Fleury, F. and Gibert, P. (2016). Effects of daily fluctuating temperatures on the *Drosophila – Leptopilina boulardi* parasitoid association. *J. Therm. Biol.* **60**, 95–102.

Delbac, L. and Thiéry, D. (2016). Damage to grape flowers and berries by *Lobesia botrana* larvae (Denis & Schiffernüller) (Lepidoptera: Tortricidae), and relation to larval age. *Aust. J. Grape Wine Res.* **22**, 256–261.

Denis, D., Pierre, J.-S., van Baaren, J. and van Alphen, J. J. M. (2011). How temperature and habitat quality affect parasitoid lifetime reproductive success - a simulation study. *Ecol. Modell.* **222**, 1604–1613.

Denny, M. (2017). The fallacy of the average: on the ubiquity, utility and continuing novelty of Jensen's inequality. *J. Exp. Biol.* **220**, 139–146.

Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Huey, R. B., Sheldon, K. S., Ghalambor, C. K., Haak, D. C. and Martin, P. R. (2008). Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 6668–6672.

Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Tigchelaar, M., Battisti, D. S., Merrill, S. C., Huey, R. B. and Naylor, R. L. (2018). Increase in crop losses to insect pests in a warming climate. *Science.* **361**, 916–919.

Dhaliwal, G. S., Jindal, V. and Dhawan, A. K. (2010). Insect pest problems and crop losses: changing trends. *Indian Jounal Ecol.* **37**, 1–7.

Dhaliwal, G. S., Jindal, V. and Bharathi, M. (2015). Crop losses due to insect pests: global and indian scenario. *Indian J. Entomol.* **77**, 165–168.

Diamond, S. E. and Kingsolver, J. G. (2010). Environmental dependence of thermal reaction norms: host plant quality can reverse the temperature-size rule. *Am. Nat.* **175**, 1–10.

Donelson, J. M., Salinas, S., Munday, P. L. and Shama, L. N. S. (2018). Transgenerational plasticity and climate change experiments: where do we go from here? *Glob. Chang. Biol.* **24**, 13–34.

Dosdall, L. M., Zalucki, M. P., Tansey, J. A. and Furlong, M. J. (2012). Developmental responses of the diamondback moth parasitoid *Diadegma semiclausum* (Hellén) (Hymenoptera: Ichneumonidae) to temperature and host plant species. *Bull. Entomol. Res.* **102**, 373–384.

Dosio, A., Mentaschi, L., Fischer, E. M. and Wyser, K. (2018). Extreme heat waves under 1.5°C and 2°C global warming. *Environ. Res. Lett.* **13**, 054006.

Dossena, M., Yvon-Durocher, G., Grey, J., Montoya, J. M., Perkins, D. M., Trimmer, M. and Woodward, G. (2012). Warming alters community size structure and ecosystem functioning. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **279**, 3011–3019.

Duan, J. J., Schmude, J. M., Wang, X.-Y., Watt, T. J. and Bauer, L. S. (2018). Host utilization, reproductive biology, and development of the larval parasitoid *Tetrastichus planipennisi* as influenced by temperature: implications for biological control of the emerald ash borer in North America. *Biol. Control* **125**, 50–56.

Easterling, D. R., Horton, B., Jones, P. D., Peterson, T. C., Karl, T. R., Parker, D. E., Salinger, M. J., Razuvayev, V., Plummer, N., Jamason, P., et al. (1997). Maximum and minimum temperature trends for the globe. *Science.* **277**, 364–367.

Easterling, D. R., Evans, J. L., Groisman, P. Y., Karl, T. R., Kunkel, K. E. and Ambenje, P. (2000). Observed variability and trends in extreme climate events: a brief review. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* **81**, 417–425.

El-Sayed, A., Gödde, J., Witzgall, P. and Arn, H. (1999). Characterization of pheromone blend for grapevine moth, *Lobesia botrana* by using flight track recording. *J. Chem. Ecol.* **25**, 389–400.

Eslin, P. and Prévost, G. (1998). Hemocyte load and immune resistance to *Asobara tabida* are correlated in species of the *Drosophila melanogaster* subgroup. *J. Insect Physiol.* **44**, 807–816.

Estay, S. A., Lima, M. and Labra, F. A. (2009). Predicting insect pest status under climate change scenarios: combining experimental data and population dynamics modelling. *J. Appl. Entomol.* **133**, 491–499.

Estay, S. A., Lima, M. and Bozinovic, F. (2014). The role of temperature variability on insect performance and population dynamics in a warming world. *Oikos* **123**, 131–140.

Fagerström, T. and Wiklund, C. (1982). Why do males emerge before females? protandry as a mating strategy in male and female butterflies. *Oecologia* **52**, 164–166.

Ferguson, H. M., John, B., Ng'habi, K. and Knols, B. G. J. (2005). Redressing the sex imbalance in knowledge of vector biology. *Trends Ecol. Evol.* **20**, 202–209.

Firlej, A., Lucas, E., Coderre, D. and Boivin, G. (2010). Impact of host behavioral defenses on parasitization efficacy of a larval and adult parasitoid. *BioControl* **55**, 339–348.

Fischer, K., Kölzow, N., Höltje, H. and Karl, I. (2011). Assay conditions in laboratory experiments: is the use of constant rather than fluctuating temperatures justified when investigating temperature-induced plasticity? *Oecologia* **166**, 23–33.

Fischer, K., Klockmann, M. and Reim, E. (2014). Strong negative effects of simulated heat waves in a tropical butterfly. *J. Exp. Biol.* **217**, 2892–2898.

Folguera, G., Bastías, D. A., Caers, J., Rojas, J. M., Piulachs, M.-D., Bellés, X. and Bozinovic, F. (2011). An experimental test of the role of environmental temperature variability on ectotherm molecular, physiological and life-history traits: implications for global warming. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* **159**, 242–246.

Fonseca, M. G., Auad, A. M., Resende, T. T., Hott, M. C. and Borges, C. A. V. (2016). How will *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) respond to global warming? *J. Insect Sci.* **16**, 1–6.

Foray, V., Pelisson, P.-F., Bel-Venner, M.-C., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., Giron, D. and Rey, B. (2012). A handbook for uncovering the complete

energetic budget in insects: the van Handel's method (1985) revisited. *Physiol. Entomol.* **37**, 295–302.

Foray, V., Desouhant, E. and Gibert, P. (2014). The impact of thermal fluctuations on reaction norms in specialist and generalist parasitic wasps. *Funct. Ecol.* **28**, 411–423.

Fraga, H., Santos, J. A., Malheiro, A. C., Oliveira, A. A., Moutinho-Pereira, J. and Jones, G. V. (2016). Climatic suitability of Portuguese grapevine varieties and climate change adaptation. *Int. J. Climatol.* **36**, 1–12.

Friedländer, M. (1997). Control of the eupyrene–apyrene sperm dimorphism in Lepidoptera. *J. Insect Physiol.* **43**, 1085–1092.

Friedländer, M., Seth, R. K. and Reynolds, S. E. (2005). Eupyrene and apyrene sperm: dichotomous spermatogenesis in Lepidoptera. *Adv. Insect Phys.* **32**, 206–308.

Furlong, M. J. and Zalucki, M. P. (2017). Climate change and biological control: the consequences of increasing temperatures on host–parasitoid interactions. *Curr. Opin. Insect Sci.* **20**, 39–44.

Gabel, B. and Roehrich, R. (1995). Sensitivity of grapevine phenological stages to larvae of European grapevine moth, *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lep., Tortricidae). *J. Appl. Entomol.* **119**, 127–130.

Geister, T. L., Lorenz, M. W., Hoffmann, K. H. and Fischer, K. (2009). Energetics of embryonic development: effects of temperature on egg and hatchling composition in a butterfly. *J. Comp. Physiol. B* **179**, 87–98.

Gerritsma, S., Haan, A., Zande, L. and Wertheim, B. (2013). Natural variation in differentiated hemocytes is related to parasitoid resistance in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* **59**, 148–158.

Gilioli, G., Pasquali, S. and Marchesini, E. (2016). A modelling framework for pest population dynamics and management: an application to the grape berry moth. *Ecol. Modell.* **320**, 348–357.

Gillespie, D. R., Nasreen, A., Moffat, C. E., Clarke, P. and Roitberg, B. D. (2012). Effects of simulated heat waves on an experimental community of pepper plants,

green peach aphids and two parasitoid species. *Oikos* **121**, 149–159.

Gilligan, T. M., Epstein, M. E., Passoa, S. C., Powell, J. A., Sage, O. C. and Brown, J. W. (2011). Discovery of *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) in California: an invasive species new to North America (Lepidoptera: Tortricidae). *Proc. Entomol. Soc. Washingt.* **113**, 14–30.

González-Santoyo, I. and Córdoba-Aguilar, A. (2012). Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. *Entomol. Exp. Appl.* **142**, 1–16.

Greeney, H. F., Dyer, L. A. and Smilanich, A. M. (2012). Feeding by lepidopteran larvae is dangerous: a review of caterpillars' chemical, physiological, morphological, and behavioral defenses against naturel enemies. *Invertebr. Surviv. J.* **9**, 7–34.

Gross, P. (1993). Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* **38**, 251–273.

Gutierrez, A. P., Ponti, L., Cooper, M. L., Gilioli, G., Baumgärtner, J. and Duso, C. (2012). Prospective analysis of the invasive potential of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) in California. *Agric. For. Entomol.* **14**, 225–238.

Gutierrez, A. P., Ponti, L., Gilioli, G. and Baumgärtner, J. (2017). Climate warming effects on grape and grapevine moth (*Lobesia botrana*) in the Palearctic region. *Agric. For. Entomol.* **20**, 255–271.

Han, P., Becker, C., Sentis, A., Rostás, M., Desneux, N. and Lavoir, A.-V. (2019). Global change-driven modulation of bottom–up forces and cascading effects on biocontrol services. *Curr. Opin. Insect Sci.* **35**, 27–33.

Hance, T., van Baaren, J., Vernon, P. and Boivin, G. (2007). Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. *Annu. Rev. Entomol.* **52**, 107–126.

Hansen, J., Sato, M., Ruedy, R., Lo, K., Lea, D. W. and Medina-Elizade, M. (2006). Global temperature change. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 14288–14293.

Harari, A. R., Zahavi, T. and Thiéry, D. (2011). Fitness costs of pheromone

production in signaling female moths. *Evolution.* **65**, 1572–1582.

Harris, R. M. B., Grose, M. R., Lee, G., Bindoff, N. L., Porfirio, L. L. and Fox-Hughes, P. (2014). Climate projections for ecologists. *Wiley Interdiscip. Rev. Clim. Chang.* **5**, 621–637.

Harvey, J. A. (2015). Conserving host–parasitoid interactions in a warming world. *Curr. Opin. Insect Sci.* **12**, 79–85.

Hawkins, B. A., Cornell, H. V. and Hochberg, M. E. (1997). Predators, parasitoids, and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. *Ecology* **78**, 2145–2152.

Helmuth, B., Russell, B. D., Connell, S. D., Dong, Y., Harley, C. D., Lima, F. P., Sará, G., Williams, G. A. and Mieszkowska, N. (2014). Beyond long-term averages: making biological sense of a rapidly changing world. *Clim. Chang. Responses* **1**, 6.

Henri, D. C., Seager, D., Weller, T. and van Veen, F. J. F. (2012). Potential for climate effects on the size-structure of host–parasitoid indirect interaction networks. *Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.* **367**, 3018–3024.

Hiroyoshi, S. and Mitsuhashi, J. (1998). Effects of environmental conditions and aging on eupyrene sperm movement in male adults of *Polygonia c-aureum* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Zool. Sci.* **15**, 561–566.

Hommay, G., Gertz, C., Kienlen, J. C., Pizzol, J. and Chavigny, P. (2002). Comparison between the control efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and two *Trichogramma cacoeciae* Marchal strains against grapevine moth (*Lobesia botrana* Den. & Schiff.), depending on their release density. *Biocontrol Sci. Technol.* **12**, 569–581.

Huey, R. B. and Kingsolver, J. G. (1989). Evolution of thermal sensitivity of ectotherm performance. *Trends Ecol. Evol.* **4**, 131–135.

Huey, R. B. and Stevenson, R. D. (1979). Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *Integr. Comp. Biol.* **19**, 357–366.

Huey, R. B., Kearney, M. R., Krockenberger, A., Holtum, J. A. M., Jess, M. and Williams, S. E. (2012). Predicting organismal vulnerability to climate warming: roles of behaviour, physiology and adaptation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **367**, 1665–79.

Hughes, L. (2000). Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends Ecol. Evol.* **15**, 56–61.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2014) *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (ed. R.K. Pachauri and L.A. Meyer).

Iossa, G., Maury, C., Fletcher, R. M. and Eady, P. E. (2019). Temperature-induced developmental plasticity in *Plodia interpunctella* : reproductive behaviour and sperm length. *J. Evol. Biol.* **32**, 675–682.

Jacob, D., Petersen, J., Eggert, B., Alias, A., Christensen, O. B., Bouwer, L. M., Braun, A., Colette, A., Déqué, M., Georgievski, G., et al. (2014). EURO-CORDEX: new high-resolution climate change projections for European impact research. *Reg. Environ. Chang.* **14**, 563–578.

Jakoby, O., Lischke, H. and Wermelinger, B. (2019). Climate change alters elevational phenology patterns of the European spruce bark beetle (*Ips typographus*). *Glob. Chang. Biol.*

Jamieson, M. A., Trowbridge, A. M., Raffa, K. F. and Lindroth, R. L. (2012). Consequences of climate warming and altered precipitation patterns for plant-insect and multitrophic interactions. *Plant Physiol.* **160**, 1719–1727.

Janowitz, S. A. and Fischer, K. (2011). Opposing effects of heat stress on male versus female reproductive success in *Bicyclus anynana* butterflies. *J. Therm. Biol.* **36**, 283–287.

Jeffs, C. T. and Lewis, O. T. (2013). Effects of climate warming on host-parasitoid interactions. *Ecol. Entomol.* **38**, 209–218.

Jentsch, A., Kreyling, J. and Beierkuhnlein, C. (2007). A new generation of climate-change experiments: events, not trends. *Front. Ecol. Environ.* **5**, 365–

374.

Jones, P. D., New, M., Parker, D. E., Martin, S. and Rigor, I. G. (1999). Surface air temperature and its changes over the past 150 years. *Rev. Geophys.* **37**, 173–199.

Karl, T. R. and Trenberth, K. E. (2003). Modern global climate change. *Science* **302**, 1719–1723.

Karl, T. R., Jones, P. D., Knight, R. W., Kukla, G., Plummer, N., Razuvayev, V., Gallo, K. P., Lindseay, J., Charlson, R. J. and Peterson, T. C. (1993). A new perspective on recent global warming: asymmetric trends of daily maximum and minimum temperature. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* **74**, 1007–1023.

Kaspari, M. (2019). In a globally warming world, insects act locally to manipulate their own microclimate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **116**, 5220–5222.

Kearney, M., Shine, R. and Porter, W. P. (2009). The potential for behavioral thermoregulation to buffer “cold-blooded” animals against climate warming. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 3835–3840.

Kellermann, V., Chown, S. L., Schou, M. F., Aitkenhead, I., Janion-Scheepers, C., Clemson, A., Scott, M. T. and Sgrò, C. M. (2019). Comparing thermal performance curves across traits: how consistent are they? *J. Exp. Biol.* **222**, jeb193433.

Kiaeian Moosavi, F., Cargnus, E., Pavan, F. and Zandigiacomo, P. (2018). Effects of grapevine bunch exposure to sunlight on berry surface temperature and *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) egg laying, hatching and larval settlement. *Agric. For. Entomol.* **20**, 420–432.

King, A. M. and MacRae, T. H. (2015). Insect heat shock proteins during stress and diapause. *Annu. Rev. Entomol.* **60**, 59–75.

Kingsolver, J. G., Woods, H. A., Buckley, L. B., Potter, K. A., MacLean, H. J. and Higgins, J. K. (2011). Complex life cycles and the responses of insects to climate change. *Integr. Comp. Biol.* **51**, 719–732.

Kingsolver, J. G., Higgins, J. K. and Augustine, K. E. (2015). Fluctuating temperatures and ectotherm growth: distinguishing non-linear and time-

dependent effects. *J. Exp. Biol.* **218**, 2218–2225.

Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Zibaee, A., Abroon, P. and Alford, L. (2016). The effect of host nutritional quality on multiple components of *Trichogramma brassicae* fitness. *Bull. Entomol. Res.* **106**, 633–641.

Klapwijk, M. J., Gröbler, D., Ward, K. and Lewis, O. T. (2010). Influence of experimental warming and shading on host-parasitoid synchrony. *Glob. Chang. Biol.* **16**, 102–112.

Kleynhans, E., Conlong, D. E. and Terblanche, J. S. (2014). Host plant-related variation in thermal tolerance of *Eldana saccharina*. *Entomol. Exp. Appl.* **150**, 113–122.

Klockmann, M., Günter, F. and Fischer, K. (2017). Heat resistance throughout ontogeny: body size constrains thermal tolerance. *Glob. Chang. Biol.* **23**, 686–696.

Koh, L. P., Dunn, R. R., Sodhi, N. S., Colwell, R. K., Proctor, H. C. and Smith, V. S. (2004). Species coextinctions and the biodiversity crisis. *Science.* **305**, 1632–1634.

Konagaya, T., Idogawa, N. and Watanabe, M. (2016). Motility and dynamics of eupyrene and apyrene sperm in the spermatheca of the monandrous swallowtail butterfly *Byasa alcinous*. *Physiol. Entomol.* **41**, 185–192.

Konopka, J. K. and McNeil, J. N. (2017). Day-night temperature differential, rather than mean temperature, determines age of sexual maturation in *Straicosta albicosta* (Noctuidae). *J. Insect Physiol.* **103**, 86–90.

Körner, C. and Basler, D. (2010). Phenology under global warming. *Science.* **19**, 1461–1462.

Krebs, R. A. and Loeschcke, V. (1994). Costs and benefits of activation of the heat-shock response in *Drosophila melanogaster*. *Funct. Ecol.* **8**, 730–737.

Lashof, D. A. and Ahuja, D. R. (1990). Relative contributions of greenhouse gas emissions to global warming. *Nature* **344**, 529–531.

Laughton, A. M., O'Connor, C. O. and Knell, R. J. (2017). Responses to a warming

world: integrating life history, immune investment, and pathogen resistance in a model insect species. *Ecol. Evol.* **7**, 9699–9710.

Lavine, M. D. and Strand, M. R. (2002). Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **32**, 1295–1309.

Le Lann, C., Lodi, M. and Ellers, J. (2014). Thermal change alters the outcome of behavioural interactions between antagonistic partners. *Ecol. Entomol.* **39**, 578–588.

Le Roux, P. C. and McGeoch, M. A. (2008). Rapid range expansion and community reorganization in response to warming. *Glob. Chang. Biol.* **14**, 2950–2962.

Lean, J. L. and Rind, D. H. (2009). How will Earth's surface temperature change in future decades? *Geophys. Res. Lett.* **36**, L15708.

Lee, K. P. and Roh, C. (2010). Temperature-by-nutrient interactions affecting growth rate in an insect ectotherm. *Entomol. Exp. Appl.* **136**, 151–163.

Llandres, A. L., Marques, G. M., Maino, J. L., Kooijman, S. A. L. M., Kearney, M. R. and Casas, J. (2015). A dynamic energy budget for the whole life-cycle of holometabolous insects. *Ecol. Monogr.* **85**, 353–371.

Ma, G. and Ma, C.-S. (2012). Climate warming may increase aphids' dropping probabilities in response to high temperatures. *J. Insect Physiol.* **58**, 1456–1462.

Ma, G., Rudolf, V. H. W. and Ma, C.-S. (2015). Extreme temperature events alter demographic rates, relative fitness, and community structure. *Glob. Chang. Biol.* **21**, 1794–1808.

Ma, C.-S., Wang, L., Zhang, W. and Rudolf, V. H. W. (2018a). Resolving biological impacts of multiple heat waves: interaction of hot and recovery days. *Oikos* **127**, 622–633.

Ma, G., Bai, C.-M., Wang, X.-J., Majeed, M. Z. and Ma, C.-S. (2018b). Behavioural thermoregulation alters microhabitat utilization and demographic rates in ectothermic invertebrates. *Anim. Behav.* **142**, 49–57.

Maclean, I. M. D. and Wilson, R. J. (2011). Recent ecological responses to climate change support predictions of high extinction risk. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*

108, 12337–12342.

Maher, N. and Thiéry, D. (2004a). Distribution of chemo- and mechanoreceptors on the tarsi and ovipositor of female European grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Entomol. Exp. Appl.* **110**, 135–143.

Maher, N. and Thiéry, D. (2004b). A bioassay to evaluate the activity of chemical stimuli from grape berries on the oviposition of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Bull. Entomol. Res.* **94**, 27–33.

Maher, N., Thiéry, D. and Stadler, E. (2006). Oviposition by *Lobesia botrana* is stimulated by sugars detected by contact chemoreceptors. *Physiol. Entomol.* **31**, 14–22.

Malmendal, A., Overgaard, J., Bundy, J. G., Sørensen, J. G., Nielsen, N. C., Loeschcke, V. and Holmstrup, M. (2006). Metabolomic profiling of heat stress: hardening and recovery of homeostasis in *Drosophila*. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* **291**, R205–R212.

Martín-Vertedor, D., Ferrero-García, J. J. and Torres-Vila, L. M. (2010). Global warming affects phenology and voltinism of *Lobesia botrana* in Spain. *Agric. For. Entomol.* **12**, 169–176.

Martin, T. L. and Huey, R. B. (2008). Why “suboptimal” is optimal: Jensen’s inequality and ectotherm thermal preferences. *Am. Nat.* **171**, E102-E118.

Meehl, G. A. and Tebaldi, C. (2004). More intense, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century. *Science* **305**, 994–997.

Meinshausen, M., Meinshausen, N., Hare, W., Raper, S. C. B., Frieler, K., Knutti, R., Frame, D. J. and Allen, M. R. (2009). Greenhouse-gas emission targets for limiting global warming to 2°C. *Nature* **458**, 1158–1162.

Meinshausen, M., Smith, S. J., Calvin, K., Daniel, J. S., Kainuma, M. L. T., Lamarque, J.-F., Matsumoto, K., Montzka, S. A., Raper, S. C. B., Riahi, K., et al. (2011). The RCP greenhouse gas concentrations and their extensions from 1765 to 2300. *Clim. Change* **109**, 213–241.

Meng, E., Tang, B., Hou, Y., Chen, X., Chen, J. and Yu, X.-Q. (2016). Altered immune function of *Octodonta nipae* (Maulik) to its pupal endoparasitoid,

Tetrastichus brontispae Ferrière. *Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol.* **198**, 100–109.

Menzel, A., Sparks, T. H., Estrella, N., Koch, E., Aasa, A., Ahas, R., Alm-Kübler, K., Bissolli, P., Braslavská, O., Briede, A., et al. (2006). European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Glob. Chang. Biol.* **12**, 1969–1976.

Merkey, A. B., Wong, C. K., Hoshizaki, D. K. and Gibbs, A. G. (2011). Energetics of metamorphosis in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* **57**, 1437–1445.

Milonas, P. G., Farrell, S. L. and Andow, D. A. (2011). Experienced males have higher mating success than virgin males despite fitness costs to females. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **65**, 1249–1256.

Moffat, T. (2013). Sensor technology to assess grape bunch temperature variability in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz.

Moiroux, J., Abram, P. K., Louâpre, P., Barrette, M., Brodeur, J. and Boivin, G. (2016). Influence of temperature on patch residence time in parasitoids: physiological and behavioural mechanisms. *Sci. Nat.* **103**, 32–42.

Morbey, Y. E. and Ydenberg, R. C. (2001). Protandrous arrival timing to breeding areas: a review. *Ecol. Lett.* **4**, 663–673.

Moreau, J., Benrey, B. and Thiéry, D. (2006). Grape variety affects larval performance and also female reproductive performance of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Bull. Entomol. Res.* **96**, 205–212.

Moreau, J., Thiéry, D., Troussard, J. P. and Benrey, B. (2007). Grape variety affects female but also male reproductive success in wild European grapevine moths. *Ecol. Entomol.* **32**, 747–753.

Moreau, J., Richard, A., Benrey, B. and Thiéry, D. (2009). Host plant cultivar of the grapevine moth *Lobesia botrana* affects the life history traits of an egg parasitoid. *Biol. Control* **50**, 117–122.

Moreau, J., Villemant, C., Benrey, B. and Thiéry, D. (2010). Species diversity of larval parasitoids of the European grapevine moth (*Lobesia botrana*,

Lepidoptera: Tortricidae): the influence of region and cultivar. *Biol. Control* **54**, 300–306.

Moreau, J., Monceau, K. and Thiéry, D. (2016). Larval food influences temporal oviposition and egg quality traits in females of *Lobesia botrana*. *J. Pest Sci.* **89**, 439–448.

Moschos, T. (2006). Yield loss quantification and economic injury level estimation for the carpophagous generations of the European grapevine moth *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae). *Int. J. Pest Manag.* **52**, 141–147.

Muller, K. (2016). Influence de la plante hôte sur les performances sexuelles des mâles et conséquences sur le potentiel reproductif des femelles phytophages.

Muller, K., Thiéry, D., Moret, Y. and Moreau, J. (2015a). Male larval nutrition affects adult reproductive success in wild European grapevine moth (*Lobesia botrana*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* **69**, 39–47.

Muller, K., Vogelweith, F., Thiéry, D., Moret, Y. and Moreau, J. (2015b). Immune benefits from alternative host plants could maintain polyphagy in a phytophagous insect. *Oecologia* **177**, 467–475.

Muller, K., Arenas, L., Thiéry, D. and Moreau, J. (2016a). Direct benefits from choosing a virgin male in the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Anim. Behav.* **114**, 165–172.

Muller, K., Thiéry, D., Delbac, L. and Moreau, J. (2016b). Mating patterns of the European grapevine moth, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in sympatric and allopatric populations. *Biol. J. Linn. Soc.* **120**, 685–699.

Muller, K., Thiéry, D., Motreuil, S. and Moreau, J. (2016c). What makes a good mate? Factors influencing male and female reproductive success in a polyphagous moth. *Anim. Behav.* **120**, 31–39.

Noor-ul-Ane, M., Ali Mirhosseini, M., Crickmore, N., Saeed, S., Noor, I. and Zalucki, M. P. (2017). Temperature-dependent development of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and its larval parasitoid, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae): implications for species interactions. *Bull. Entomol. Res.* **108**, 1–10.

Oerke, E.-C. (2006). Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* **144**, 31–43.

Paaijmans, K. P., Heinig, R. L., Seliga, R. A., Blanford, J. I., Blanford, S., Murdock, C. C. and Thomas, M. B. (2013). Temperature variation makes ectotherms more sensitive to climate change. *Glob. Chang. Biol.* **19**, 2373–2380.

Parmesan, C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **37**, 637–669.

Parmesan, C. and Yohe, G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* **421**, 37–42.

Parmesan, C., Ryrholm, N., Stefanescu, C., Hill, J. K., Thomas, C. D., Descimon, H., Huntley, B., Kaila, L., Kullberg, J., Tammaru, T., et al. (1999). Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature* **399**, 579–583.

Perkins-Kirkpatrick, S. E. and Gibson, P. B. (2017). Changes in regional heatwave characteristics as a function of increasing global temperature. *Sci. Rep.* **7**, 12256.

Perkins, S. E., Alexander, L. V. and Nairn, J. R. (2012). Increasing frequency, intensity and duration of observed global heatwaves and warm spells. *Geophys. Res. Lett.* **39**, L20714.

Pincebourde, S. and Casas, J. (2015). Warming tolerance across insect ontogeny: influence of joint shifts in microclimates and thermal limits. *Ecology* **96**, 986–997.

Pincebourde, S. and Casas, J. (2019). Narrow safety margin in the phyllosphere during thermal extremes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **116**, 5588–5596.

Pincebourde, S. and Woods, H. A. (2012). Climate uncertainty on leaf surfaces: the biophysics of leaf microclimates and their consequences for leaf-dwelling organisms. *Funct. Ecol.* **26**, 844–853.

Porter, J. H., Parry, M. L. and Carter, T. R. (1991). The potential effects of climatic change on agricultural insect pests. *Agric. For. Meteorol.* **57**, 221–240.

Potter, K. A., Woods, A. H. and Pincebourde, S. (2013). Microclimatic challenges in global change biology. *Glob. Chang. Biol.* **19**, 2932–2939.

Poyet, M., Havard, S., Prevost, G., Chabrerie, O., Doury, G., Gibert, P. and Eslin, P. (2013). Resistance of *Drosophila suzukii* to the larval parasitoids *Leptopilina heterotoma* and *Asobara japonica* is related to haemocyte load. *Physiol. Entomol.* **38**, 45–53.

Radchuk, V., Turlure, C. and Schtickzelle, N. (2013). Each life stage matters: the importance of assessing the response to climate change over the complete life cycle in butterflies. *J. Anim. Ecol.* **82**, 275–285.

Rankin, D. J. and Kokko, H. (2007). Do males matter? The role of males in population dynamics. *Oikos* **116**, 335–348.

Reineke, A. and Thiéry, D. (2016). Grapevine insect pests and their natural enemies in the age of global warming. *J. Pest Sci.* **89**, 313–328.

Renner, S. S. and Zohner, C. M. (2018). Climate change and phenological mismatch in trophic interactions among plants, insects, and vertebrates. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **49**, 165–182.

Robinet, C. and Roques, A. (2010). Direct impacts of recent climate warming on insect populations. *Integr. Zool.* **5**, 132–142.

Robinet, C., Rousselet, J., Pineau, P., Miard, F. and Roques, A. (2013). Are heat waves susceptible to mitigate the expansion of a species progressing with global warming? *Ecol. Evol.* **3**, 2947–2957.

Roditakis, N. E. and Karandinos, M. G. (2001). Effects of photoperiod and temperature on pupal diapause induction of grape berry moth *Lobesia botrana*. *Physiol. Entomol.* **26**, 329–340.

Rodriguez-Trelles, F., Tarrio, R. and Santos, M. (2013). Genome-wide evolutionary response to a heat wave in *Drosophila*. *Biol. Lett.* **9**, e20130228.

Roehrich, R. (1970). Diapause in *Lobesia botrana* Schiff (Lep., Tortricidae): induction and elimination. *Ann. Zool. Ecol. Anim.* **1**, 419–431.

Rosenzweig, C., Elliott, J., Deryng, D., Ruane, A. C., Müller, C., Arneth, A., Boote, K. J., Folberth, C., Glotter, M., Khabarov, N., et al. (2014). Assessing agricultural risks of climate change in the 21st century in a global gridded crop model intercomparison. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**, 3268–3273.

Royer, L. and McNeil, J. N. (1993). Male Investment in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae): impact on female longevity and reproductive performance. *Funct. Ecol.* **7**, 209–215.

Ruel, J. J. and Ayres, M. P. (1999). Jensen's inequality predicts effects of environmental variation. *Trends Ecol. Evol.* **14**, 361–366.

Sales, K., Vasudeva, R., Dickinson, M. E., Godwin, J. L., Lumley, A. J., Michalczyk, Ł., Hebberecht, L., Thomas, P., Franco, A. and Gage, M. J. G. (2018). Experimental heatwaves compromise sperm function and cause transgenerational damage in a model insect. *Nat. Commun.* **9**, 4771.

Savopoulou-Soultani, M., Nikolaou, N. and Milonas, P. G. (1999). Influence of maturity stage of grape berries on the development of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) larvae. *J. Econ. Entomol.* **92**, 551–556.

Scaramozzino, P. L., Loni, A. and Lucchi, A. (2017). A review of insect parasitoids associated with *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller, 1775) in Italy. 1. Diptera Tachinidae and Hymenoptera Braconidae (Lepidoptera, Tortricidae). *Zookeys* **647**, 67–100.

Scaramozzino, P. L., Di Giovanni, F., Loni, A., Ricciardi, R. and Lucchi, A. (2018). Updated list of the insect parasitoids (Insecta, Hymenoptera) associated with *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller, 1775) (Lepidoptera, Tortricidae) in Italy. 2. Hymenoptera, Ichneumonidae, Anomaloninae and Campopleginae. *Zookeys* **772**, 47–95.

Schreven, S. J. J., Frago, E., Stens, A., de Jong, P. W. and van Loon, J. J. A. (2017). Contrasting effects of heat pulses on different trophic levels, an experiment with a herbivore-parasitoid model system. *PLoS One* **12**, e0176704.

Seehausen, L. M., Cusson, M., Régnière, J., Bory, M., Stewart, D., Djoumad, A., Smith, S. M. and Martel, V. (2017a). High temperature induces downregulation of polydnavirus gene transcription in lepidopteran host and enhances accumulation of host immunity gene transcripts. *J. Insect Physiol.* **98**, 126–133.

Seehausen, M. L., Régnière, J., Martel, V. and Smith, S. M. (2017b). Developmental and reproductive responses of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) parasitoid *Tranosema rostrale* (Hymenoptera:

Ichneumonidae) to temperature. *J. Insect Physiol.* **98**, 38–46.

Seguin, B. and Garcia de Cortazar, I. (2005). Climate warming: consequences for viticulture and the notion of “terroirs” in Europe. *Acta Hortic.* **689**, 61–70.

Seidel, D. J., Fu, Q., Randel, W. J. and Reichler, T. J. (2008). Widening of the tropical belt in a changing climate. *Nat. Geosci.* **1**, 21–24.

Şengonca, Ç. and Leisse, N. (1987). Vorkommen und Bedeutung von *Trichogramma semblidis* Auriv.(Hym., Trichogrammatidae) als Eiparasit beider Traubenwicklerarten im Ahrtal. *J. Appl. Entomol.* **103**, 527–531.

Sgrò, C. M., Terblanche, J. S. and Hoffmann, A. A. (2016). What can plasticity contribute to insect responses to climate change? *Annu. Rev. Entomol.* **61**, 433–451.

Sharma, H. C. (2014). Climate change effects on insects: implications for crop protection and food security. *J. Crop Improv.* **28**, 229–259.

Silberglied, R. E., Shepherd, J. G. and Dickinson, J. L. (1984). Eunuchs: the role of apyrene sperm in Lepidoptera? *Am. Nat.* **123**, 255–265.

Sinclair, B. J., Terblanche, J. S., Scott, M. B., Blatch, G. L., Jaco Klok, C. and Chown, S. L. (2006). Environmental physiology of three species of *Collembola* at Cape Hallett, North Victoria Land, Antarctica. *J. Insect Physiol.* **52**, 29–50.

Sinclair, B. J., Marshall, K. E., Sewell, M. A., Levesque, D. L., Willett, C. S., Slotsbo, S., Dong, Y., Harley, C. D. G., Marshall, D. J., Helmuth, B. S., et al. (2016). Can we predict ectotherm responses to climate change using thermal performance curves and body temperatures? *Ecol. Lett.* **19**, 1372–1385.

Singer, M. C. and Parmesan, C. (2010). Phenological asynchrony between herbivorous insects and their hosts: signal of climate change or pre-existing adaptive strategy? *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **365**, 3161–3176.

Smith, M. D. (2011). An ecological perspective on extreme climatic events: a synthetic definition and framework to guide future research. *J. Ecol.* **99**, 656–663.

Smith, T. T., Zaitchik, B. F. and Gohlke, J. M. (2013). Heat waves in the United

States: definitions, patterns and trends. *Clim. Change* **118**, 811–825.

Sofaer, H. R., Barsugli, J. J., Jarnevich, C. S., Abatzoglou, J. T., Talbert, M. K., Miller, B. W. and Morisette, J. T. (2017). Designing ecological climate change impact assessments to reflect key climatic drivers. *Glob. Chang. Biol.* **23**, 2537–2553.

Soto-Padilla, A., Ruijsink, R., Sibon, O. C. M., van Rijn, H. and Billeter, J.-C. (2018). Thermosensory perception regulates speed of movement in response to temperature changes in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Biol.* **221**, jeb174151.

Stavridis, D. G. and Savopoulou-Soultani, M. (1998). Larval performance on and oviposition preference for known and potential hosts by *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Eur. J. Entomol.* **95**, 55–63.

Stinner, R. E. (1977). Efficacy of inundative releases. *Annu. Rev. Entomol.* **22**, 515–531.

Stireman, J. O., Dyer, L. A., Janzen, D. H., Singer, M. S., Lill, J. T., Marquis, R. J., Ricklefs, R. E., Gentry, G. L., Hallwachs, W., Coley, P. D., et al. (2005). Climatic unpredictability and parasitism of caterpillars: implications of global warming. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 17384–7.

Stoks, R., Verheyen, J., Van Dievel, M. and Tüzün, N. (2017). Daily temperature variation and extreme high temperatures drive performance and biotic interactions in a warming world. *Curr. Opin. Insect Sci.* **23**, 35–42.

Stürup, M., Baer-Imhoof, B., Nash, D. R., Boomsma, J. J. and Baer, B. (2013). When every sperm counts: factors affecting male fertility in the honeybee *Apis mellifera*. *Behav. Ecol.* **24**, 1192–1198.

Tan, J., Zheng, Y., Song, G., Kalkstein, L. S., Kalkstein, A. J. and Tang, X. (2006). Heat wave impacts on mortality in Shanghai, 1998 and 2003. *Int. J. Biometeorol.* **51**, 193–200.

Taylor, K. E., Stouffer, R. J. and Meehl, G. A. (2012). An overview of CMIP5 and the experiment design. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* **93**, 485–498.

Terblanche, J. S., Karsten, M., Mitchell, K. A., Barton, M. G. and Gibert, P. (2015). Physiological variation of insects in agricultural landscapes: potential

impacts of climate change. In *Climate Change and Insect Pests* (ed. Björkman, C. and Niemelä, P.), pp. 92–118. CABI.

Thackeray, S. J., Henrys, P. A., Hemming, D., Bell, J. R., Botham, M. S., Burthe, S., Helaouet, P., Johns, D. G., Jones, I. D., Leech, D. I., et al. (2016). Phenological sensitivity to climate across taxa and trophic levels. *Nature* **535**, 241–245.

Thierry, M., Hrček, J. and Lewis, O. T. (2019). Mechanisms structuring host–parasitoid networks in a global warming context: a review. *Ecol. Entomol.* **44**, 581–592.

Thiéry, D. (2005). *Vers de la grappe : les connaître pour s'en protéger*. Vigne & vin publications internationales.

Thiéry, D. and Desneux, N. (2018). Host plants of the polyphagous grapevine moth *Lobesia botrana* during larval stage modulate moth egg quality and subsequent parasitism by the parasitoid *Trichogramma cacoeciae*. *Entomol. Gen.* **38**, 47–59.

Thiéry, D. and Moreau, J. (2005). Relative performance of European grapevine moth (*Lobesia botrana*) on grapes and other hosts. *Oecologia* **143**, 548–557.

Thiéry, D., Guisset, M. and Yoshida, T. (2006). *Phytomyptera nigrina* (Meigen)(Diptera, Tachinidae) parasite of the first generation of the European grapevine moth larvae in several vineyards of the Roussillon area. *Tachinid Times* **19**, 1–4.

Thiéry, D., Monceau, K. and Moreau, J. (2014a). Different emergence phenology of European grapevine moth (*Lobesia botrana*, Lepidoptera: Tortricidae) on six varieties of grapes. *Bull. Entomol. Res.* **104**, 277–287.

Thiéry, D., Monceau, K. and Moreau, J. (2014b). Larval intraspecific competition for food in the European grapevine moth *Lobesia botrana*. *Bull. Entomol. Res.* **104**, 517–524.

Thiéry, D., Louâpre, P., Muneret, L., Rusch, A., Sentenac, G., Vogelweith, F., Iltis, C. and Moreau, J. (2018). Biological protection against grape berry moths. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **38**, 15.

Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., Erasmus, B. F. N., de Siqueira, M. F., Grainger, A.,

Hannah, L., et al. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature* **427**, 145–148.

Thomas, C. D., Franco, A. M. A. and Hill, J. K. (2006). Range retractions and extinction in the face of climate warming. *Trends Ecol. Evol.* **21**, 415–416.

Thompson, R. M., Beardall, J., Beringer, J., Grace, M. and Sardina, P. (2013). Means and extremes: building variability into community-level climate change experiments. *Ecol. Lett.* **16**, 799–806.

Thomson, L. J., Macfadyen, S. and Hoffmann, A. A. (2010). Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. *Biol. Control* **52**, 296–306.

Tilman, D., Balzer, C., Hill, J. and Befort, B. L. (2011). Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108**, 20260–20264.

Torres-Vila, L. M., Rodríguez-Molina, M. C., Roehrich, R. and Stockel, J. (1999). Vine phenological stage during larval feeding affects male and female reproductive output of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Bull. Entomol. Res.* **89**, 549–556.

Torres-Vila, L. M., Rodríguez-Molina, M. C. and Stockel, J. (2002). Delayed mating reduces reproductive output of female European grapevine moth, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Bull. Entomol. Res.* **92**, 241–249.

Tran, T. T., Janssens, L., Dinh, K. V. and Stoks, R. (2019). An adaptive transgenerational effect of warming but not of pesticide exposure determines how a pesticide and warming interact for antipredator behaviour. *Environ. Pollut.* **245**, 307–315.

Triggs, A. and Knell, R. J. (2012). Interactions between environmental variables determine immunity in the Indian meal moth *Plodia interpunctella*. *J. Anim. Ecol.* **81**, 386–394.

Tylianakis, J. M., Didham, R. K., Bascompte, J. and Wardle, D. A. (2008). Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* **11**, 1351–1363.

Urban, M. C. (2015). Accelerating extinction risk from climate change. *Science* **348**, 571–573.

van Baaren, J., Le Lann, C. and van Alphen, J. (2010). Consequences of climate change for aphid-based multi-trophic systems. In *Aphid Biodiversity under Environmental Change* (ed. Kindlmann, P., Dixon, A. and Michaud, J.), pp. 55–68. Springer Netherlands.

Van der Putten, W. H., Macel, M. and Visser, M. E. (2010). Predicting species distribution and abundance responses to climate change: why it is essential to include biotic interactions across trophic levels. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **365**, 2025–2034.

Van Dievel, M., Stoks, R. and Janssens, L. (2017). Beneficial effects of a heat wave: higher growth and immune components driven by a higher food intake. *J. Exp. Biol.* **220**, 3908–3915.

van Leeuwen, C. and Darriet, P. (2016). The impact of climate change on viticulture and wine quality. *J. Wine Econ.* **11**, 150–167.

Varela, L. G., Smith, R. J., Cooper, M. L. and Hoenisch, R. W. (2010). European grapevine moth, *Lobesia botrana*, in Napa Valley vineyards. *Pract. Winer. Vineyard* **March/April**, 1–5.

Vasseur, D. A., DeLong, J. P., Gilbert, B., Greig, H. S., Harley, C. D. G., McCann, K. S., Savage, V., Tunney, T. D. and O'Connor, M. I. (2014). Increased temperature variation poses a greater risk to species than climate warming. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **281**, 20132612.

Vasudeva, R., Deeming, D. C. and Eady, P. E. (2014). Developmental temperature affects the expression of ejaculatory traits and the outcome of sperm competition in *Callosobruchus maculatus*. *J. Evol. Biol.* **27**, 1811–1818.

Vázquez, D. P., Gianoli, E., Morris, W. F. and Bozinovic, F. (2017). Ecological and evolutionary impacts of changing climatic variability. *Biol. Rev.* **92**, 22–42.

Verheyen, J. and Stoks, R. (2019). Temperature variation makes an ectotherm more sensitive to global warming unless thermal evolution occurs. *J. Anim. Ecol.* **88**, 624–636.

Visser, M. E. and Both, C. (2005). Shifts in phenology due to global climate change: the need for a yardstick. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **272**, 2561–2569.

Vogelweith, F., Thiéry, D., Quaglietti, B., Moret, Y. and Moreau, J. (2011). Host plant variation plastically impacts different traits of the immune system of a phytophagous insect. *Funct. Ecol.* **25**, 1241–1247.

Vogelweith, F., Moret, Y., Thiéry, D. and Moreau, J. (2013a). *Lobesia botrana* larvae develop faster in the presence of parasitoids. *PLoS One* **8**, e72568.

Vogelweith, F., Dourneau, M., Thiéry, D., Moret, Y. and Moreau, J. (2013b). Geographical variation in parasitism shapes larval immune function in a phytophagous insect. *Naturwissenschaften* **100**, 1149–61.

Vogelweith, F., Thiéry, D., Moret, Y., Colin, E., Motreuil, S. and Moreau, J. (2014). Defense strategies used by two sympatric vineyard moth pests. *J. Insect Physiol.* **64**, 54–61.

Vogelweith, F., Moret, Y., Thiéry, D., Delbac, L. and Moreau, J. (2017). No evidence of an immune adjustment in response to a parasitoid threat in *Lobesia botrana* larvae. *J. Insect Physiol.* **102**, 7–11.

Walther, G.-R. (2010). Community and ecosystem responses to recent climate change. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **365**, 2019–2024.

Walther, G.-R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J. C., Fromentin, J.-M., Hoegh-Guldberg, O. and Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature* **416**, 389–395.

Wang, G. and Dillon, M. E. (2014). Recent geographic convergence in diurnal and annual temperature cycling flattens global thermal profiles. *Nat. Clim. Chang.* **4**, 988–992.

Webb, L. B., Whetton, P. H., Bhend, J., Darbyshire, R., Briggs, P. R. and Barlow, E. W. R. (2012). Earlier wine-grape ripening driven by climatic warming and drying and management practices. *Nat. Clim. Chang.* **2**, 259–264.

Wetherington, M. T., Jennings, D. E., Shrewsbury, P. M. and Duan, J. J. (2017). Climate variation alters the synchrony of host-parasitoid interactions. *Ecol. Evol.* **7**, 8578–8587.

Wheeler, T. and von Braun, J. (2013). Climate change impacts on global food security. *Science* **341**, 508–513.

Wiklund, C. and Fagerström, T. (1977). Why do males emerge before females? *Oecologia* **31**, 153–158.

Wilson, J. E. (1998). *Terroir: The Role of Geology, Climate and Culture in Making of French Wine*. University of California Press.

Woods, H. A., Dillon, M. E. and Pincebourde, S. (2015). The roles of microclimatic diversity and of behavior in mediating the responses of ectotherms to climate change. *J. Therm. Biol.* **54**, 86–97.

Xuéreb, A. and Thiéry, D. (2006). Does natural larval parasitism of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) vary between years, generation, density of the host and vine cultivar? *Bull. Entomol. Res.* **96**, 105–110.

Zeh, J. A., Bonilla, M. M., Su, E. J., Padua, M. V., Anderson, R. V., Kaur, D., Yang, D. and Zeh, D. W. (2012). Degrees of disruption: projected temperature increase has catastrophic consequences for reproduction in a tropical ectotherm. *Glob. Chang. Biol.* **18**, 1833–1842.

Zhang, W., Zhao, F., Hoffmann, A. A. and Ma, C.-S. (2013). A single hot event that does not affect survival but decreases reproduction in the diamondback moth, Plutella xylostella. *PLoS One* **8**, e75923.

Zhang, W., Chang, X.-Q., Hoffmann, A., Zhang, S. and Ma, C.-S. (2015a). Impact of hot events at different developmental stages of a moth: the closer to adult stage, the less reproductive output. *Sci. Rep.* **5**, 10436.

Zhang, W., Rudolf, V. H. W. and Ma, C.-S. (2015b). Stage-specific heat effects: timing and duration of heat waves alter demographic rates of a global insect pest. *Oecologia* **179**, 947–957.

Zhao, L. and Jones, W. A. (2012). Expression of heat shock protein genes in insect stress responses. *Invertebr. Surviv. J.* **9**, 93–101.

Zhao, F., Xing, K., Hoffmann, A. A. and Ma, C. (2019). The importance of timing of heat events for predicting the dynamics of aphid pest populations. *Pest Manag. Sci.* **75**, 1866–1874.

Zhu, L., Wang, L. and Ma, C.-S. (2019). Sporadic short temperature events cannot be neglected in predicting impacts of climate change on small insects. *J. Insect Physiol.* **112**, 48–56.

Zidon, R., Tsueda, H., Morin, E. and Morin, S. (2016). Projecting pest population dynamics under global warming: the combined effect of inter- and intra-annual variations. *Ecol. Appl.* **26**, 1198–1210.

Ziter, C., Robinson, E. A. and Newman, J. A. (2012). Climate change and voltinism in Californian insect pest species: sensitivity to location, scenario and climate model choice. *Glob. Chang. Biol.* **18**, 2771–2780.

Zizzari, Z. V. and Ellers, J. (2014). Rapid shift in thermal resistance between generations through maternal heat exposure. *Oikos* **123**, 1365–1370.

Annexes

Je vous propose de retrouver dans les annexes qui suivent trois articles publiés pendant ma thèse mais n'ayant pas été intégrés dans le corps principal du manuscrit, du fait d'un rapport avec la thématique de la thèse plus ou moins éloigné.

En Annexe 1, vous trouverez une revue focalisée sur le contrôle biologique des vers de la grappe (eudémis et cochylis). Cette revue comporte une description détaillée de la biologie des espèces de tordeuses et de leur interaction avec les autres niveaux trophiques (plante hôte et ennemis naturels au sens large) au sein des agroécosystèmes. Elle évoque également les facteurs environnementaux pouvant moduler l'efficacité du contrôle biologique réalisé par les ennemis naturels sur les populations des ravageurs. Dans cette optique, j'ai participé à la rédaction du paragraphe s'intéressant aux conséquences du réchauffement climatique pour le devenir des populations de tordeuses et leur interaction avec les insectes parasitoïdes.

Les Annexes 2 et 3 n'ont aucun rapport direct avec la thématique de thèse. Elles renvoient à deux articles rédigés à l'issue de mes stages de Master 1 (à l'Institut d'Écologie et des Sciences de l'Environnement de Paris) et de Master 2 (au sein de l'UMR CNRS 6282 Biogéosciences, à Dijon). Les deux articles s'intéressent au même modèle biologique (les crustacés amphipodes), mais traitent de thématiques fondamentalement différentes. L'article produit à partir des résultats du stage de Master 1 s'intéresse aux conséquences du parasitisme par une microsporidie sur la différence de réponses fonctionnelles entre une espèce d'amphipode invasive (*Dikerogammarus villosus*), et deux espèces natives (*Gammarus pulex* et *Echinogammarus berilloni*). Il démontre que plusieurs paramètres définissant la réponse fonctionnelle du gammare invasif (le taux d'attaque et la durée de manipulation de la proie) étaient affectés par le parasitisme, avec des conséquences potentielles en termes de compétition entre cet envahisseur et les deux espèces natives. L'article résultant des données du stage de Master 2 s'intéresse aux conséquences énergétiques du comportement de gardiennage précopulatoire chez *Gammarus pulex* dans une perspective évolutive, attestant de bénéfices énergétiques insoupçonnés pour les deux partenaires appariés.

MANUSCRIT 6

Biological protection against grape berry moths. A review.

Denis Thiéry[a], Philippe Louâpre[b], Lucile Muneret[a], Adrien Rusch[a], Gilles Sentenac[c], Fanny Vogelweith[d], Corentin Iltis[b], and Jérôme Moreau[b]

[a] *UMR INRA 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33882 Villenave-d'Ornon, France.*

[b] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[c] *Institut Français de la Vigne et du Vin, 6 Rue du 16è Chasseurs, 21200 Beaune.*

[d] *Institut für Zoologie, Abt. Evolutions biologie, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, Germany.*

Publié dans *Agronomy for Sustainable Development* (2018)

doi : 10.1007/s13593-018-0493-7

Agronomy for Sustainable Development (2018) 38:15
https://doi.org/10.1007/s13593-018-0493-7

REVIEW ARTICLE

Biological protection against grape berry moths. A review

Denis Thiéry[1,2] · Philippe Louâpre[3] · Lucile Muneret[1] · Adrien Rusch[1] · Gilles Sentenac[4] · Fanny Vogelweith[5] · Corentin Iltis[3] · Jérôme Moreau[3]

Accepted: 16 February 2018
© INRA and Springer-Verlag France SAS, part of Springer Nature 2018

Abstract
Grape is a major crop, covering 7.5 M ha worldwide, that is currently being confronted with three main challenges: intensive pesticide use that must be reduced, invasion by new pests/diseases, and climate change. The biological control of pests and vectors would help address these challenges. Here, we review the scientific literature on the biological control of grape moths by macroorganisms (excluding nematodes). Two components, biological control with an active human role, mainly using biocontrol agents through inundation or inoculation, and conservation biological control, are considered. The major points are the following. (1) Tortricid grape moths seriously damage grapes worldwide, causing yield losses and quality reduction. The more geographically widespread species, *Lobesia botrana*, continues to extend its range, invading South American and, more recently, North American vineyards. (2) Parasitoids and predators (including arthropods, birds, and bats) that can control grape pests are very diverse. (3) Different methods exist to assess pest control efficiency in the field but some of them remain to be developed. (4) Environmental factors, including host plants, landscape, grass or floral covers, and organic practices, affect the natural control of grape moths. (5) Pest resistance to parasitoids strongly depends on their immune system, which is controlled by the host plant. Future climate changes may modify this tritrophic interaction and thus affect biological control strategies. We conclude that biological control has a great deal of potential in viticulture and that addressing these key factors would improve the efficiency levels of biological control strategies. This would help growers and stakeholders to significantly reduce insecticide use in vineyards.

Keywords *Lobesia botrana* · *Eupoecilia ambiguella* · Biodiversity · Agroecology · Viticulture · Agricultural practices · Landscape architecture · Parasitoids · Predators

Contents

1. Introduction
2. Grape berry moths in vineyards
3. Grape pests' natural enemies in vineyards
   3.1 Parasitoids
   3.2 Arthropod predators
   3.3 Predation by birds and bats
4. Evaluation of pest control efficiency in the field
5. Key factors inducing variation in biological control of grapevine moths
   5.1 Effect of the host plant (including grape cultivar)
   5.2 Viticulture practices and biological control
   5.3 Vineyard landscape and natural biological control
   5.4 Climate changes on tritrophic interactions and natural biological control
6. Perspectives and conclusions
   6.1 Challenges for research
   6.2 Challenges for growers and crop protection advisors
Acknowledgements
References

✉ Denis Thiéry
denis.thiery@inra.fr

[1] INRA UMR 1065 Santé et Agroecologie du Vignoble, INRA, ISVV, Villenave d'Ornon Cedex, France

[2] UMT Seven INRA-IFV, Villenave d'Ornon Cedex, France

[3] Equipe Ecologie Evolutive, UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France

[4] IFV Beaune, 6, rue du 16è Chasseurs, 21200 Beaune, France

[5] Institut für Zoologie, Abt. Evolutions biologie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Johannes-von-Müller-Weg 6, 55128 Mainz, Germany

Published online: 05 March 2018

1 Introduction

Crops worldwide are the targets of more than 10,000 insect species (Dhaliwal et al. 2010), which are responsible for huge annual losses of between 20 and 50% of total production (Thacker 2002; Oerke 2006). Given the rate of human population growth, protecting crops from damage caused by pests is a major challenge to ensuring an adequate food supply in the future (Thomas 1999; Tilman et al. 2011). The extensive use of chemical products to control crop pests is now widely criticized because of their negative effects on the environment and trophic chains, from plants to humans (Hallenbeck and Cunningham-Burns 1995; Desneux et al. 2007; Geiger et al. 2010). Moreover, owing to the past irrational use of pesticides, some insect pests have acquired forms of resistance, making them less susceptible to biochemical products (Roush and Tabashnik 1990; Boyer et al. 2012). For the past few decades, the scientific community and governmental agencies have recommended the use of alternative, less invasive and more environmentally friendly methods of control to make agriculture more sustainable. Controlling pests through biological control and integrated pest management strategies are potential ways to address current ecological and societal concerns (Kogan 1998; Thomas 1999; Way and Van Emden 2000; Brewer and Goodell 2012).

Biological control and integrated pest management aim at optimally managing insect pests using different techniques, like the use of chemical mediators to disrupt mating (i.e., insect pheromones), autocidal control (based on the release of sterile males), and auxiliary macroorganisms (Thacker 2002; Walter 2005), without disturbing ecosystem functions (Ehler 2006; Naranjo and Ellsworth 2009; Abrol and Shankar 2012). At least two strategies based on the activity of auxiliary macroorganisms can be developed: (i) biological control based on endogenous biodiversity from crops and the adjacent seminatural habitat and (ii) natural enemy releases. To maximize their efficiency, such control methods must consider the ecology of targeted pests and natural enemies, as well as the relationships among trophic levels, including host plants (Ferguson et al. 2005; Pérez-Staples et al. 2012).

Here, we focus on grape, which is a major crop worldwide, with a vine area of 7.52 million ha that is targeted by numerous pests and diseases, resulting in very high levels of pesticide treatments (e.g., in 2010, the treatment frequency ranged from 10 to 25 times per year in France; Butault et al. 2010) with total amounts of active substance in kilograms per hectare in average 21.4 (EU) and, respectively, 49.6 (Portugal), 32.6 (France), 31.1 (Germany), 20.3 (Greece), and 17.8 (Italy) (Endure 2006). Among the numerous insect pests of grapes, the two tortricid Lepidoptera, the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) and the grape berry moth (GBM) *Eupoecilia ambiguella* (Hubn.), have been worldwide harmful pests for years in viticulture and often cause high levels of damage to grape bunches (Thiéry et al. 2011a) (Fig. 1). These two main species have very similar traits and will be grouped further in this review as GBMs. Surprisingly, no accurate quantitative economic impact is available for GBMs. One *L. botrana* larva is capable of damaging between 2 and 10 berries, depending on the cultivar and the grape phenology, and up to 20 to 30 larvae per cluster may occur in heavily attacked vineyards (Delbac and Thiéry 2016). In addition to direct predation on the berry, the presence of larvae encourages bunch rot development (causal agents being *Botrytis cinerea*, *Aspergilus carbonarius*, and *Aspergilus niger*), which results in severe qualitative and quantitative damages (Cozzi et al. 2006; Delbac and Thiéry 2016). Currently, these pests are mainly controlled by synthetic insecticides, which can be neurotoxic (e.g., pyrethrinoids and indoxacarb); insect growth regulators, like flufenoxuron; and recently, muscle contraction inhibitors, like emmamectin. Thus, viticulture must be adapted to the new challenges of pest management, and the development of biological controls against these pests is promising (Thiéry 2011). Alternative treatments against GBMs have already been produced, and they mainly rely on natural insecticides including sprays of *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin (see Pertot et al. 2017 for a recent review) and on mating disruption by sex pheromones (recently reviewed in Ioriatti et al. 2011). Biological control based on macroorganisms (parasitoids and predators) could also be developed as a valuable alternative to chemical pest control in viticulture in combination with these two methods (Mills and Danne 2005; Moreau et al. 2009; Thiéry 2011).

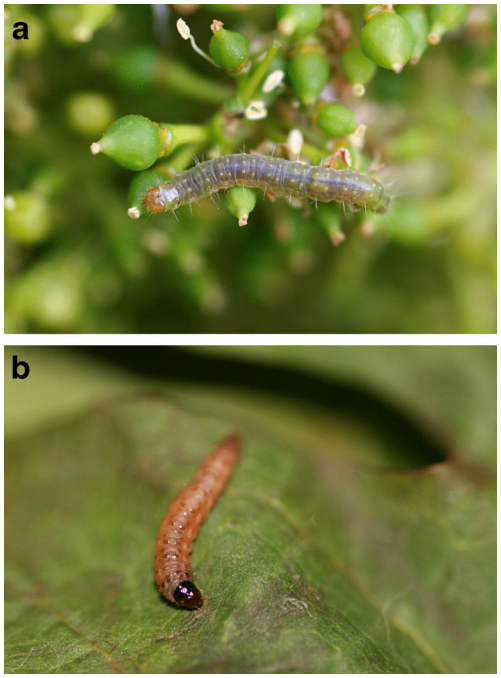


Fig. 1 Fully grown (5th instar) larva of **a** *Lobesia botrana* (picture F. Vogelweith) and **b** *Eupoecilia ambiguella* (picture F. Vogelweith), on vine leaves. Larva length is c. 1 cm

Despite the numerous studies carried out in ecological chemistry, physiology, and behavior to improve the effectiveness of grape pest management (Thiéry 2008; Ioriatti et al. 2011), GBMs continue to proliferate in vineyards, which suggests that control methods have not been optimized.

The objective of this review is to synthesize the literature regarding the biological control of GBMs. It will focus on the biological control of GBMs by beneficial macroorganisms, including arthropods, birds, and bats, and will consider the biological and ecological factors that may affect the efficiency levels of such biological control strategies. The key factors identified in this review should help increase our understanding of the context dependency and the variability associated with biological control strategies and thus aid in their future development to protect grapes from GBMs.

2 Grape berry moths in vineyards

The two GBMs, *L. botrana* and *E. ambiguella*, are polyphagous and plurivoltine, producing two to four generations per year under European vineyard conditions (Thiéry 2008) (Fig. 2). While the larvae develop on more than 30 different food plants, these polyphagous species occur mainly on grape varieties and almost exclusively develop on flowers and berries. Therefore, grape provides an important and continuous resource from spring to autumn, allowing the establishment of high population levels, which can reach over 15–30 larvae per grape cluster in some places (Thiéry et al. 2014; Schellhorn et al. 2015; Delbac and Thiéry 2016). They undergo diapause in the winter as pupae under grape stock bark or inside the nonharvested grape bunches, and then adults emerge in early spring for nuptial flights. Interestingly, *L. botrana* and *E. ambiguella* belong to the Olethreutini subfamily, a group of species that oviposit individual eggs unlike most moths, which lay egg clusters (Moreau et al. 2016). This trait is interpreted as an oviposition strategy for limiting exposure to egg parasitoids and predators, which have a discrete and cryptic host/prey resource. Neonatal larvae can penetrate berries within the few hours after hatching. Fully grown larvae rarely move from one bunch to another (Torres-Vila et al. 1997), and when the adult density is high, high larval populations may also occur, with up to 30 larval *L. botrana* per *Cabernet sauvignon* bunch (Thiéry et al. 2014). Thus, the spatial distributions of eggs and larvae are mostly the result of the oviposition behavior performed by the females (Gabel and Thiéry Gabel and Thiéry 1992, 1996). During their development in June, the larvae of these two moth species build individual nests, called "glomerulae," with their silk (Delbac and Thiéry 2016). The nests provide shelter and protection against adverse conditions (i.e., insulation from temperature variation and a barrier against predators and parasitoids). In July and August, the larvae of these two species are berry borers.

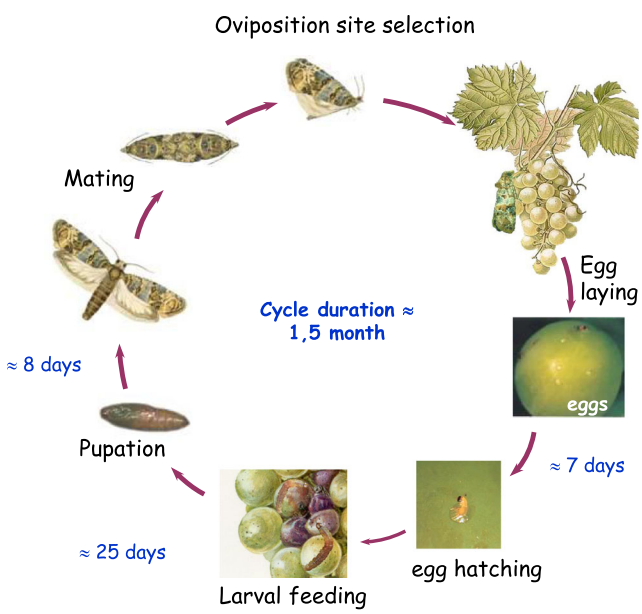


Fig. 2 Life cycle of grape berry moths, as represented for *L. botrana* showing the main stages. Duration is indicative and varies as a function of external temperature. Durations provided are those recorded in vineyards for the spring generation in south west France (1 month in summer). The two species *L. botrana* and *E. ambiguella* have very similar life cycle. In SW France, *Lb* accomplishes three or four generations per year, *Ea* two or three cycles (D. Thiéry and N. Maher)

3 Grape pests' natural enemies in vineyards

Globally, both the species richness and evenness of natural enemies increase the capabilities of natural pest control services in agrosystems (Letourneau et al. 2009; Crowder et al. 2010). This is the result of nonexcluding mechanisms, either a complementarity effect or a sampling effect (Straub et al. 2008). The complementarity effect predicts that pest suppression resulting from different natural enemy species is equal or greater than the sum of the suppression induced by each species alone. This relationship can be explained by resource complementarity owing to niche partitioning or facilitation (Straub et al. 2008). The sampling effect hypothesis states that a larger number of species in a given assemblage increase the probability of including an effective predator that contributes more than the other to the pest control function (Loreau and Hector 2001; Straub et al. 2008). Promoting the abundance and diversity of natural enemies is therefore expected to optimize natural pest control services in vineyard landscapes. However, the exact roles of several species and functional groups found in vineyards are not known.

Contributions to the biological control of GBM can come from either natural populations of arthropod predators or parasitoids and also from avian and mammalian predators (Thiéry et al. 2001; Sentenac 2011; Vincent et al. 2012; Rusch et al.

2015 for a recent issue). Increasing attention is currently being placed on arthropod biodiversity, which may have potential owing to their natural predation and parasitism capabilities. As examples, impressive numbers of carabid beetle species (124 in Goulet et al. 2004; 39 in Rusch et al. 2016) and 97 spider species (Bolduc et al. 2005) have been found in vineyards. Larval or egg parasitoids are also very abundant and diverse in vineyards (Thiéry et al. 2006; Thiéry et al. 2011b; Moreau et al. 2009; Sentenac 2011). To date, these studies have only established the occurrence of a large diversity of natural enemies, but their control potential has not been evaluated.

3.1 Parasitoids

Current vineyards are far from being "no parasitoid lands." In lectures or training courses, students and growers are always surprised by a list of parasitoids found in most vineyards, with more than 70 species that are mainly found in Hymenoptera (Thiéry 2008; Loni et al. 2016) (see Table 1 for an abbreviated list). Recently, in a study conducted in Australian vineyards, 20–30 parasitoid species were found (Paull and Austin 2007). In addition to the host density, which is a main driver of parasitoid populations, viticulture practices, such as organic viticulture or the use of interrow grass covers and floral strips, also favor a complex parasitoid community (Genini 2000). Globally, recent research indicates that landscape and climatic conditions also affect the diversity of parasitoids that naturally occur in a vineyard (Moreau et al. 2009; Loni et al. 2016). Clearly, understanding how such factors contribute to the variation in biodiversity requires further study.

Some species of parasitoids are rather cosmopolitan and found worldwide, such as the Ichneumonid *Campoplex capitator* or the Pteromalids *Dibrachys* spp., possibly because they are more plastic in their ecological requirements (Moreau et al. 2010). Other species are less frequently observed and are limited to certain vineyards or vine production regions. An example is *Exochus tibialis*, which was exclusively found in Switzerland (in the Valaisan vineyards, Switzerland) and Alsace (France) in a large field survey performed by Moreau et al. (2009).

The Ichneumonid *C. capitator* (previously named *Campoplex majalis* for its strong occurrence in spring) was probably the first well-studied larval parasitoid (Audouin 1842; Jolicoeur 1894). This species is described as a specialist parasitoid that has a large expected foraging distance (Xuéreb and Thiéry 2006). Because it is able to undergo diapause in its host, it has the advantage of good synchrony with the pest and is thus very active in the first spring generation.

In addition to Hymenoptera, the tachinids from the order Diptera can be important parasitoids, and *Phytomiptera nigrina* is suspected to increase its geographical area in the context of climate change (Reineke and Thiéry 2016). *P. nigrina* is an efficient parasitoid in warm vineyards (Thiéry et al. 2006) and will represent an interesting larval parasitoid against *L. botrana* in future years.

Trichogramma sp. has been known egg parasitoids in viticulture for more than a century. For instance, *Oophtora semblidis* (current name *Trichogramma semblidis*) was found in *L. botrana* and *E. ambiguella* eggs from several vineyards (Marchal and Feytaud 1911). To date, only the release of *Trichogramma* sp. has been attempted in viticulture on a large scale. The main reasons being that the moth eggs are easily mass produced and inexpensive, and the resulting larvae provide an efficient level of biocontrol against other moth pests (e.g., the European corn borer). They were first used in 1980 against GBM eggs (Barnay et al. 1999; Reda Abd el Monsef 2004; Hommay et al. 2011; Walton et al. 2012), the American grape berry moth *Endopizza viteana* (Nagarkatti et al. 2003), and also against the light brown apple moth *Epiphyas postvittana* in Australian vineyards (Glenn and Hoffmann 1997). Several species of *Trichogramma*, such as *T. brassicae* Bezdenko, *T. cacoeciae* Marchal, *T. dendrolimi* Matsumura, and *T. minutum* Riley, have been used with significant but varying pest reduction results. Currently, the use of *Trichogramma* sp. against GBMs is still very marginal in viticulture, mainly because of the varying and inconsistent efficiency levels (Barnay et al. 1999; Walton et al. 2012). Even though the use of sulfur applications is suspected as deleterious for *Trichogramma* sp., we did not identify a scientific report stating that specific conclusion. Thus, the main factors for explaining these varying parasitism rates are the amounts of *Trichogramma* sp. released per surface area and the number of release points, which affects the size of the protected area (Hommay et al. 2011). Hommay et al. (2002) reported better results against the GBM when releasing *Trichogramma evanescens* at 800 instead of 400 points per hectare.

To increase the efficiency of *Trichogramma* sp. releases, several experiments investigated the roles of kairomones in the attraction of *Trichogramma* sp. The egg odors of *L. botrana* and *E. ambiguella* have been analyzed and rely mainly on C16–C18 fatty acids and esters (Gabel and Thiéry 1992; Thiéry et al. 1995). They are well detected by conspecific females, and the arrestment of *T. brassicae* has been described in response to oleic acid (Frenoy et al. 1992). Some evidence also exists that host females (pheromone and wing scales) may attract *Trichogramma* sp. (Fatouros et al. 2008; Milonas et al. 2009). Thus, the marking of the alternative host *Ephestia kunhiella* eggs with *L. botrana* scales in the laboratory increased the oviposition rates by *T. cacoeciae* (Barnay et al. 1999). This suggests that several *Trichogramma* sp. can use such kairomones to optimize their foraging behaviors in vineyards and that such semiochemicals may be useful for improving the efficiency of biological control programs. Surprisingly, such research efforts on *Trichogramma* sp. against grape moths have not been sustained in vineyards for the last few years. The three following reasons could help in

Table 1 Nonexhaustive list of parasitoids (alphabetic order) reported from the literature as natural enemies of grape moths in vineyards in west European countries. This list is selected and implemented from Thiéry (2008) and Sentenac (2011). Only species reported by at least 2 references in the former list are presented here

Species	Family	Host orders	Reported hosts in vineyards	Parasitized instars (when known)
Agrothereutes abbreviatus (F.)	Ichn	Lepidoptera	EA, LB	Pupae
Ascogaster quadridenata (Wesm.)	Ichn	Tortricidae	LB	Larvae, pupae
Brachymeria minuta (Wesm.)	Chal	Lep, Dip	EA	
Campoplex capitator (Aub.)	Ichn	Tortricidae	EA, LB	L3-L4
Diadegma fenestrale (Holm.)	Ichn	Lepidoptera	LB, SP	Larvae
Dibrachys affinis (Masi)	Chal	Lepidoptera and other insects	EA, LB, SP	L4-L5
Dibrachys cavus (Walk.) (syn *boucheanus*)	Chal	Lepidoptera and other insects	EA, LB, SP	L4-L5, pupae
Dicaelotus inflexus (Thom.)	Ichn	Lepidoptera	LB	Pupae
Dicaelotus resplendens (Holm.)	Ichn	Lepidoptera		
Elachertus affinis (Masi)	Chal	Tortricidae	EA, LB, SP	Larvae
Exochus tibialis (Holm.)	Ichn	Lepidoptera	LB	Larvae, pupae
Gelis areator (Panz.)	Ichn	Lep, Hym	EA, LB	Larvae
Goniozus claripennis (Först.)	Beth	Lepidoptera	PS	Larvae
Ischnus alternator (Grav.)	Ichn	Lepidoptera	LB	Pupae
Itoplectis alternans (Grav.)	Ichn	Lep, Hym	LB, SP	Pupae
Itoplectis maculator (Fabr.)	Ichn	Lep, Hym	EA, LB, SP	Pupae
Itoplectis tunetana (Schmied.)	Ichn	Lep, Hym	EA, LB	Pupae
Phaeogenes melanogonos (Gmel.)	Ichn	Lepidoptera	EA, SP	Pupae
Phaeogenes planifrons (Wesm.)	Ichn	Lepidoptera	SP	Pupae
Phytomyptera nigrina (Meig.) (= *nitidiventris*)	Tach	Lepidoptera	LB	Larvae
Pimpla spuria (Grav.)	Ichn	Lepidoptera	LB	Pupae
Pimpla turionellae (L.)	Ichn	Lepidoptera	EA, LB, SP	Pupae
Pteromalus spp. (>8 species)	Ichn	Lep, Dip, Col, Hym	EA, LB, SP	Larvae, pupae
Scambus elegans (Woldst.)	Ichn	Lep, Hym	LB	Larvae
Tranosemella praerogator (L.)	Ichn	Lepidoptera	EA, LB, SP	Larvae
Trichogramma Minutum (Riley)	Chal	Lepidoptera	EA, LB, SP	Eggs
Trichogramma cacoeciae (Marchal)	Chal	Lepidoptera	EA, LB, SP	Eggs
Trichogramma evanescens (West.)	Chal	Lepidoptera	EA, LB, SP	Eggs
Triclistus sp.	Chal	Lepidoptera	LB	Larvae, pupae

EA, *Eupoecilia ambiguella*; *LB*, *Lobesia botrana*; *SP*, *Sparganothis pilleriana*; *Beth*, Hym. Bethylidae; *Chal*, Hym. Chalcidoidea; *Ichn*, Hym. Ichneumonidae; *Tach*, Tachinidae. *Pteromalus* and *Trichogramma* spp. regroup several species

explaining this occurrence: (i) The recent development of insect growth regulators and muscle inhibitors, which are easy to use, efficient, and cheap, in viticulture probably reduced the competitivity of parasitoid release methods; (ii) to a minor extent, mating disruption with sexual pheromones against *L. botrana* and *E. ambiguella* also negatively affected the development of such inundation or inoculation biological control techniques; and (iii) for larval parasitoids, to our knowledge, no commercial product is available for use in vineyards. *C. capitator* has been reared (Xuéreb and Thiéry 2006), as were the two species of *Dibrachys* (*cavus* and *affinis*) (Chuche et al. 2006) but only for research purposes. We hope that the commercial production of such biocontrol agents will become feasible relatively soon.

3.2 Arthropod predators

Owing to the variable habitats occupied by tortricid moths over their life span (eggs and larvae in vegetation, flying adults and nymphs wintering under the bark or in the soil), they are exposed to numerous vertebrate and invertebrate predator species. The arthropod predators of GBMs have been classified into occasional and regular predators; however, knowledge regarding their biology and impacts on pest populations comes from other crops (Sentenac 2011). Arthropod predators that are involved in the top-down control of grape moths encompass a large range of species, including spiders (each vineyard in the Bordeaux region can shelter several dozens of species; Muneret, PhD thesis unpublished data), harvestmen, true bugs

(Miridae, Anthocoridae, Nabidae, and Reduviidae), lacewings (*Chrysopa perla*, *Chrysoperla carnea*, *Chrysoperla lucasina*, *Chrysoperla affinis*, *Dichochrysa flavifrons*, and *Dichochrysa prasina* have been found in vineyards in France), and syrphids (only one species, *Xanthandrus comtus*) (Sentenac et al. 2011). To our knowledge, the identities of the more effective predators of tortricids in vineyards have been poorly investigated, and for the majority of these groups, limited data exists on their distributions in vineyard landscapes. For instance, harvestmen have been detected as tortricid larvae consumers in French vineyards (unpublished data). Recent studies on the codling moth in apple orchards showed that ground spiders are mainly involved in the predation of emergent nymphs during spring, while carabid beetles are involved in the predation of pupae during autumn (Boreau de Roincé et al. 2012). In addition, heteroptera, ants, and earwigs are involved in egg predation (Glen 1977; Glen and Milsom 1978; Frank et al. 2007). Additionally, 15% of earwigs, 8% of carabids, and 8% of spiders have ingested the tortricid codling moths (Unruh et al. 2016). Such data can be reasonably extrapolated to the vineyard system, which is similar to the orchard system. Spiders are rather diverse in vineyards (see Table 2 for the species detected in Bordeaux vineyards) and may be considered the key predators for controlling grape moths (Hogg and Daane 2010).

3.3 Predation by birds and bats

The predation of insect pests by birds and bats has been observed in several case studies (Bael et al. 2008; Karp et al. 2013; Maas et al. 2013). However, using birds and bats for biocontrol is currently being debated. Several observations indicate that birds may have adverse effects because they may also consume the grapes (Skopura and Hothem 1985; Watkins et al. 2000) and also arthropod's natural enemy (Jedlicka et al. 2014). Bats, however, would probably be very efficient, but we miss published reports in grapes and how to actively manage and use bats is less clear, especially since their spatial foraging range is not clearly known. For instance, the combined exclusion of birds and bats around cacao trees caused a significant increase in phytophagous insects and a decrease of 31% in crop yield (Maas et al. 2013). Similarly, in a coffee system, birds reduced phytophagous infestations by approximately 50% (Karp et al. 2013). These results highlight the key roles of birds and bats in the biological control of pests in perennial systems. Avian predation of the grape moth is currently motivating important research efforts (see for example Barbaro et al. 2017). The bird predation of moth larvae was affected by the interaction of bird functional community structure with habitat heterogeneity. However, to date, limited scientific literature is available on this topic. Moreover, Jedlicka et al. (2011) investigated the effects of conservation measures, such as providing nest sites for birds in vineyards. This measure strengthened pest control services to vineyard growers. The presence of nest boxes increased the species richness of avian insectivorous by 50% as well as the predation rates of *L. botrana* by 2.4 times compared with controls. These results in vineyards are in agreement with the literature on the potential positive roles of birds in pest control. However, birds can also have negative effects on overall pest control services through the predation of other natural enemies (e.g., spiders and parasitoids) (Martin et al.

Table 2 Main arachnid species collected in pitfall traps from the east Bordeaux vineyard (Entre Deux Mers and Libourne, Bordeaux vineyards). Family ranked by alphabetic order. Data source: Lucile Muneret PhD unpublished data. Identification by morphological criteria (Roberts 2009 and https://arachno.piwigo.com/)

Families	Species
Agelenidae	*Eratigena agrestis*
Gnaphosidae	*Callilepis nocturna*
Gnaphosidae	*Civizelotes civicus*
Gnaphosidae	*Drassodes lapidosus*
Gnaphosidae	*Drassyllus praeficus*
Gnaphosidae	*Gnaphosa lucifuga*
Gnaphosidae	*Haplodrassus dalmatensis*
Gnaphosidae	*Micaria coarctata*
Gnaphosidae	*Micaria pulicaria*
Gnaphosidae	*Setaphis carmeli*
Gnaphosidae	*Trachyzelotes fuscipes*
Gnaphosidae	*Zelotes aeneus*
Linyphiidae	*Agyneta rurestris*
Linyphiidae	*Diplostyla concolor*
Linyphiidae	*Erigone dentipalpis*
Linyphiidae	*Mermessus trilobatus*
Linyphiidae	*Oedothorax apicatus*
Linyphiidae	*Tenuiphantes tenuis*
Liocranidae	*Agraecina lineata*
Lycosidae	*Arctosa perita*
Lycosidae	*Hogna radiata*
Lycosidae	*Pardosa agrestis*
Lycosidae	*Pardosa hortensis*
Lycosidae	*Pardosa prativaga*
Lycosidae	*Pardosa proxima*
Lycosidae	*Pardosa vittata*
Lycosidae	*Trochosa robusta*
Lycosidae	*Xerolycosa miniata*
Salticicdae	*Neaetha membrosa*
Salticicdae	*Salticus scenicus*
Tetragnathidae	*Pachygnatha degeeri*
Theridiidae	*Asagena phalerata*
Thomisidae	*Ozyptila sanctuaria*
Thomisidae	*Xysticus erraticus*
Thomisidae	*Xysticus kochi*
Zodariidae	*Zodarion italicum*

2013; Jedlicka et al. 2014). The specific roles of birds in the control of specific pest species, such as grape moths, in vineyards are still debated and further applied research on management options to optimize avian predation services is needed.

The predation of flying moths by bats is already known and is currently gaining research interest in vineyards (Rydell et al. 1996). Bats are nocturnal, like adult grape moths, and observations of bats flying at a 5–10-m range above the vines match the flying behavior of *L. botrana* (our unpublished data). However, very few publications have focused on the predation activity of bats in vineyards. Predation, or at least contact with prey, can be recorded by typical ultrasonic vibrations, and recent observations in Burgundy (Sentenac, unpublished data) confirm that the predation of tortricid moth by bats could be considered as a potential factor in biological control. This ongoing study has presently recorded more than 15 species of bats in Burgundy vineyards (Table 3), with the most active species being *Pipistrellus pipistrellus*, *Pipistrellus kuhlii*, and *Eptesicus serotinus*.

Predation should, however, be checked carefully. First is by confirming the amount of grape moth adults of each species predated by analyzing DNA traces in bat guano (see also Section 4). Additionally, the feeding range of bats has to be carefully studied to allow their nesting behavior to be adapted to the control of grape moths. Interestingly, dispensers of *Thaumetopoea pityocampa* pheromones placed in pine forests positively influenced bat activity (Charbonnier et al. 2014). Even though the sonic detection by GBM has not been described to date, the capacity to escape bats should, however, be considered (Speakman and Rydell 2000). The escaping flight strategies of grape moths could be a component of the zigzagging or circular flight patterns observed in males and females, respectively. This type of flight has been observed in *L. botrana* (Gabel and Thiéry 1994) but may not be related to a bat escape behavior.

4 Evaluation of pest control efficiency in the field

As detailed above, vineyards are characterized by a high, sometimes unexpected, biodiversity that contains a large number of grape moth enemies. To estimate the potential natural pest control services in a vineyard, the effective predators and parasitoids that efficiently control GBM should be identified, and the predation and parasitism rates should be quantified in the field (see Birkhofer et al. 2017 for a complete review of methods to quantify biological pest control in the field). However, assessing the level of pest control in an agroecosystem is challenging because it requires a combination of different techniques for an accurate measurement (Birkhofer et al. 2017).

The most employed methods to assess parasitism rate in the field, and thus the potential control of pests by the parasitoid community, are based on a huge sampling of hosts as larvae (e.g., Moreau et al. 2009) or the use of sentinel methods (for example, the exposure of eggs to parasitoids) (Rusch et al. 2017a). The identification of parasitoid species is mainly based on morphological traits and requires accurate skills in systematics (MacFadyen et al. 2009; Sentenac 2011; Rusch et al. 2015). Such techniques are, however, time consuming and necessitate the good handling of collected pest larvae, which have to be raised until emergence (Agusti et al. 2005; Traugott et al. 2006). It also often leads to the underestimation of biological control potential because of sample death, and these techniques are often not compatible with the rapid detection of the parasitoid (Jourdie et al. 2008; Hrcek et al. 2011; Papura et al. 2016). To counteract these problems, more recent molecular methods that enable the detection of prey-specific DNA in the host body (for parasitoids), including grape berry moths, have been developed (Birkhofer et al. 2017). Two main complementary approaches are currently used in this very fast-moving field: diagnostic PCR that uses species-specific primers and DNA barcoding that uses next-generation sequencing and universal primers. Such methods allow the assessment of parasitism rates of several species simultaneously inside collected moth larvae (Wirta et al. 2014; Papura et al. 2016). Such techniques should, however, be improved by making them simpler and cheaper so that they can be used by technicians and vineyard advisors.

Additionally, using artificial prey, such as dummy caterpillars made of plasticine, is a useful technique to evaluate predation rates by vertebrates and invertebrates (Howe et al. 2009). Such techniques allow the predation rate of a given prey to be estimated by determining the number of predation marks as well as the identities of the predator groups based on distinctive bite marks. Distinctive marks can be attributed to chewing arthropods, small rodents, reptilians or birds (Barbaro et al. 2016).

In a more holistic way, it is often more informative to measure the potential biological control of a natural enemy community (parasitoids and predators) using different methods at the same time. To do this, researchers have used cage experiments and applied differential exclusion treatments (Rusch et al. 2013). Such approaches have the ability to evaluate the overall level of biological control in a given field over a given time period. Recently, a method using sentinel prey has been used to quantify the total biological control of natural enemies in vineyards (Rusch et al. 2017b). The exposure of grape moth eggs to parasitoids and predators is a rather easy technique that requires an insect stock culture with sufficient egg production. Fresh grape moth eggs can thus be exposed either on waxed paper or plastic sheets, but a more sophisticated procedure is to force females to oviposit on grape cuttings (either foliar or fructiferous) and to install such plants within the grape rows.

Table 3 Main bat species observed in Burgundy vineyards with recorded sonic casting flight or buzz. Observations and records by Gilles Sentenac (unpublished data)

Species	English common name	Casting flight	Buzz
Pipistrellus pipistrellus	Common pipistrelle bat	x	x
Pipistrellus kuhlii	Kuhl's pipistrelle bat	x	x
Eptesicus serotinus	Serotine bat	x	x
P. kuhlii/nathusii	Kuhl's/Nathusius' pipistrelle bat	x	x
Nyctalus leisleri	Leisler's bat	x	x
Myotis myotis/blytii	Greater/lesser mouse-eared bat	x	
Nyctalus noctula	Common noctule bat	x	x
Plecotus sp.	Brown/gray long-eared bat	x	
Barbastella barbastellus	Western barbastelle bat	x	x
Myotis nattereri	Natterer's bat	x	
Myotis sp.		x	
Myotis mystacinus	Whiskered bat	x	x
Miniopterus schreibersii	Schreibers' bent-winged bat	x	
Myotis emarginatus	Geoffroy's bat	x	
Myotis bechsteinii	Bechstein's bat	x	

Finally, some interesting in situ field video recordings were attempted in Australia to determine how habitat strata, and thus natural enemy communities, control another important polyphagous grape moth pest in Australian viticulture, *E. postvittana* (Frank et al. 2007). Similar techniques could be developed to measure the strength and efficiency of each member of such communities, and to evaluate the connectivity between the natural enemy habitat strata of predators and the grape clusters to be protected.

5 Key factors that induce variation in the biological control of grapevine moths

5.1 Effect of the host plant (including grape cultivar)

Phytophagous insect pests have evolved within a multitrophic environment, and many aspects of their physiology, behavior, and ecology have been shaped by interactions with other trophic levels (Poppy 1997; Karimzadeh and Wright 2008) (Fig. 3). Mainly, host plants directly affect the growth and adult fertility rates of phytophagous insects and indirectly the level of successful parasitism (Karimzadeh and Wright 2008). For example, a nutrient deficiency or/and toxic defensive compounds of the host plant slow-down the development of phytophagous insects, which extends the window of attacks for natural enemies (Benrey and Denno 1997). In grape moths, the egg size, the hatching success, and the larvae's developmental time depend on the grape variety. For instance, grape moths feeding on Gewürztraminer grapes have larger eggs, higher hatching success, and longer developmental times compared with moths feeding on other grape varieties (Moreau et al. 2006a, b). Moreover, the grape variety also influences the egg and larval parasitism rates (Moreau et al. 2009, 2010). Overall, the egg parasitism is higher on cultivars on which *L. botrana* laid larger eggs, but some grape varieties, such as Pinot, appear to be somehow repellent to parasitoids (Moreau et al. 2009). Looking deeper into the trophic interactions in a vineyard is a promising way to improve the efficiency of biocontrol programs because it aids in understanding biological control failures.

The efficiency of the natural enemies depends on their ability to bypass the sophisticated defenses used by grapevine moths (Greeney et al. 2012). The first line of defense that is particularly efficient against larval parasitoids involves escaping, twisting, and dropping (Greeney et al. 2012; Vogelweith et al. 2014). Once this barrier is passed by the natural enemies, the cuticles represent a very efficient way to fight against these natural enemies. Indeed, an individual with a thick and resistance cuticle will be less likely to be parasitize by a parasitoid (Vogelweith et al. 2014). Once morphological and behavioral defenses are bypassed, the last and most efficient defense against natural enemies, such as parasitoids, is the immune system (Greeney et al. 2012) (Fig. 4). In insects, the immune system relies on constitutive and inducible mechanisms (Lavine and Strand 2002; Siva-jothy et al. 2005). The constitutive defenses mostly involve the coordinated actions of the immune cells (the hemocytes) and the enzyme phenoloxidase (PO). Hemocytes insure most immune processes, such as the recognition and encapsulation of parasitoids and pathogens (Lavine and Strand 2002; Cerenius and Söderhäll 2004; Siva-jothy et al. 2005), while PO mediates the melanization of foreign bodies (Fig. 3). Then, the induced response mainly consists of the production of specific antimicrobial peptides by the hemocytes and the fat bodies a few hours after an infection (Haine et al. 2008) (Fig. 3). This production of

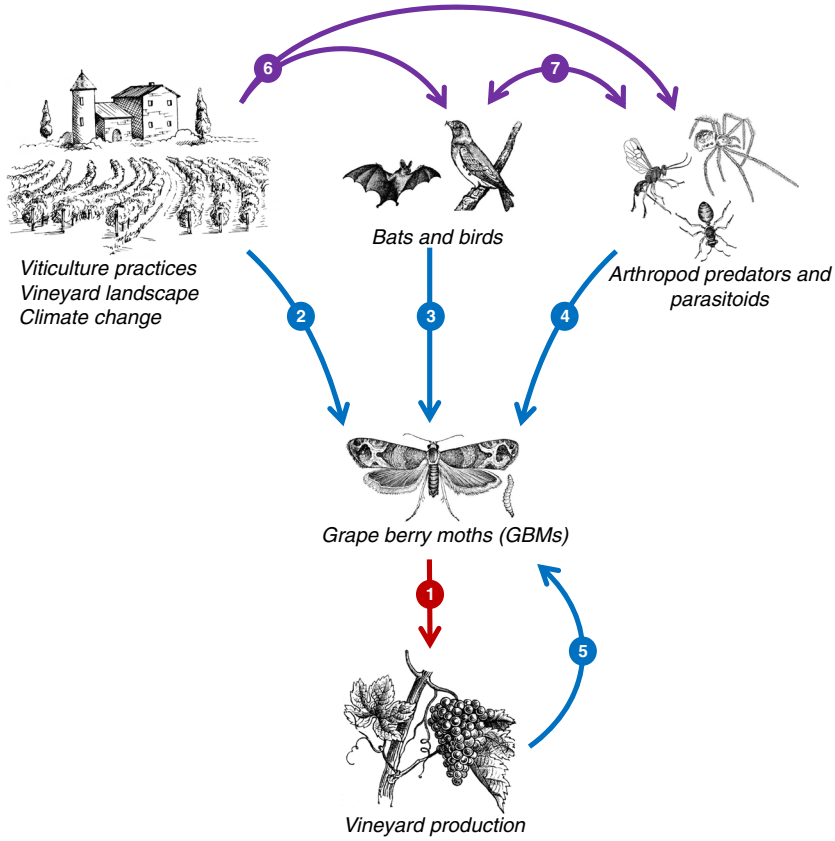


Fig. 3 Identified key ecological relations in vineyard relevant to improve the biological control management of the grape berry moths (GBMs) at different related scales, from plants, pests and natural enemies, to landscape and global environment. 1—Direct damages to grapes by GBs under efficient biological control management (Sections 1, 2, and 4 in the text); 2—effects of the vineyard environment including natural and anthropogenic factors on the susceptibility of GBMs to biological control (Sections 5.2, 5.3, and 5.4 in the text); 3 and 4—control of GBM populations by natural enemies in vineyards, through predation and parasitism pressures (Section 3 in the text); 5—relevant feedback of the effect of the plants on the susceptibility of GBMs to natural enemies, especially through the immune response of GBMs faced with parasitoids (Section 5.1 in the text); 6—indirect effects of the vineyard environment on the ability of natural enemies to control GBMs in the field; 7—interactions between upper trophic levels that may reduce the efficiency of the biological control program

antimicrobial peptides is often associated with a decrease in the PO enzyme system (Moret and Schmid-Hempel 2000; Vogelweith et al. 2011). Nutrition is recognized as a critical factor in immune defense and in resistance to natural enemies (Lazzaro and Little 2009; Ponton et al. 2011; Vogelweith et al. 2013) because the diet's quality and quantity might affect single or multiple immune parameters. For example, the grape variety has a strong effect on the larval immune system (in *L. botrana* and *E. ambiguella*), both in the laboratory and in the field (Vogelweith et al. 2011, 2013, 2015, 2016; Muller et al. 2015). In the laboratory, *E. ambiguella* larvae reared on Gewurztraminer possess more hemocytes but lower antimicrobial activity levels compared with larvae reared on other varieties (Vogelweith et al. 2011). These results suggest a trade-off between constitutive and induced pathways that are modulated by the grape variety (Vogelweith et al. 2011). This immune trade-off appears to result from the components of each grape variety more than from the elicitation of the immune system by bacteria growing on the berries (Vogelweith et al. 2015). Grapevine moths would, therefore, highly invest in their constitutive pathway in response to *B. thuringiensis*. It would then be easier for parasitoids to develop into larvae because they had already invested their energy to defend against the pathogens. However, this trade-off was not found in all grape varieties (Vogelweith et al. 2011), meaning that the biological control should be dependent on the grape variety considered. For instance, larvae reared on Gewurztraminer appear to be more efficient in their defense against parasitoids (higher hemocyte concentrations). Thus, releasing pathogens instead of parasitoids in vineyards containing the Gewurztraminer cultivar might be a more efficient way to control grapevine moths. Conversely, when larvae are developed on a cultivar that requires a higher investment in antimicrobial activity, releasing parasitoids might be the best way to control the grapevine moth population. However, cultivars may be mixed in a vineyard, which could limit this method. That is why the use of larval defenses should be a complement to other methods.

In addition, these defensive techniques are costly, and individuals are expected to invest differently in these defenses depending on their species and on the environmental threat. For

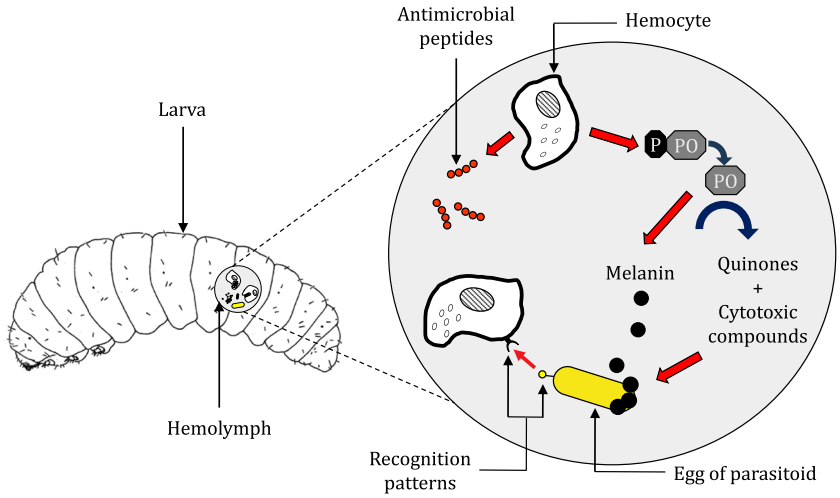


Fig. 4 Summary diagram of the immune response of an insect larva after the injection of a parasitoid egg (F. Vogelweith). Once the parasitoid egg is injected, hemocytes will immediately recognize the foreign body via the recognition patterns at the surfaces. The immune reaction will start with the recruitment of other hemocytes to cover the egg. Hemocytes will also allow the activation of the PO-PPO cascade which will release melanin to cover the egg and produce cytotoxic compounds to kill it. Few hours after the infection, antimicrobial peptides will be produced by the hemocyte to kill the remaining pathogens in the hemolymph

example, *E. ambiguella* invests more in physical defenses (thick and resistant integument) and less in behavioral defenses (e.g., twisting and dropping) and respond quickly to an immune challenge relative to *L. botrana* (Vogelweith et al. 2014). In the field, both the parasitism rate and successful parasitism are lower in *E. ambiguella* compared with *L. botrana* (Vogelweith et al. 2014), indicating that parasitoids might be more efficient in controlling *L. botrana* than *E. ambiguella* populations.

In the field, the larval immune system of *L. botrana* also depends on parasitism pressure (Vogelweith et al. 2013). Indeed, in populations experiencing a high parasitism pressure, larvae invest in higher immune parameter levels compared with populations under low parasitism pressure (Vogelweith et al. 2013). In populations with high levels of immune defenses, biological control might be difficult because their immune defenses could be adapted to the local high pressure from natural enemies.

These studies clearly show the value of increasing and applying our knowledge of tritrophic interactions between the host plant, the pests, and their natural enemies to improve the biological control of these insect pests. However, biological control was thought to be similar for *L. botrana* and *E. ambiguella* when co-occurring in vineyards. Based on their different defense-related investments, it could be important to integrate these results into biological control programs to select the most efficient natural enemies for each grapevine moth species.

5.2 Viticulture practices and biological control

Habitat manipulation is important for enhancing the biological control of arthropod pests. It is now well demonstrated that increasing vegetation diversity and/or structural complexity within fields or in the close vicinity can decrease pest attacks, increase the influence of natural enemies, and reduce crop damage (Letourneau et al. 2011; Tonhasca and Byrne 1994). These effects can be explained by the natural enemy and the resource concentration hypotheses (Root 1973). The former suggests that natural enemies are more abundant and/or diverse, as well as more effective, in suppressing herbivore populations in more diverse plant communities (Andow 1991). This effect is attributed to the higher attractiveness of diverse habitats to predators as a result of an increased availability of resources. The latter suggests that reduced herbivore populations and plant damage levels in more diverse habitats occur because of the lower probability of herbivores to find their host plants (Otway et al. 2005; Plath et al. 2012). This effect is attributed to the chemical stimuli masking host plant odors, visual camouflage, and/or physical barriers limiting the movements of individuals (Finch and Collier 2000 and the references therein). For instance, releasing "odor-masking" substances by nonhost plant species confers some protection to the associated host plant in a diversified plant community (Thiéry and Visser 1986; Finch and Collier 2000).

Several studies have found that such processes operated in grapevine agroecosystems. First, cover crop management affects natural enemy communities and biological pest control. Increasing the within-field plant diversity enhances natural enemy abundance and/or diversity (Letourneau et al. 2009; Shields et al. 2016). Using indigenous grass cover crops within vineyards benefits natural enemies, such as generalist predators and parasitoids, and increases the biological control of tortricids (Danne et al. 2010). In a recent study, Rusch et al. (2017b) found that full grass cover within vineyards strongly limited the attack rates of tortricids compared with vineyards with partial grass cover, despite the effect of landscape context

on biological control. Altieri and Nicholls (2002) found higher infestation rates of two grape herbivores, including *L. botrana* in monocultures, when comparing different cropping systems (traditional vineyards based on agroforestry and modernized simple monoculture). They also found that monoculture vineyards exhibited lower numbers of predator and parasitoid species. Moreover, the provision of floral resources within vineyards by manipulating the ground cover increases the longevity and fecundity of parasitoids, which may result in higher parasitism rates of tortricids (Berndt et al. 2002; Begum et al. 2006; Berndt et al. 2006). For instance, buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and alyssum (*Lobularia maritima*) have beneficial effects on tortricid parasitoids (Begum et al. 2006). Similarly, mulching (e.g., covering the soil surface with a layer of organic material) enhances the abundance and/or diversity of carabids, hymenopteran parasitoids, dipteran parasitoids, hemipterans, and spiders without increasing insect pest abundance in vineyards (Thomson and Hoffmann 2007; Bruggisser et al. 2010). Second, contrary to such beneficial practices, tillage (e.g., reducing habitat complexity) has a negative effect on beneficial arthropods in vineyards (Sharley et al. 2008) as in other systems (Thorbek and Bilde 2004). In addition, pesticide applications also explain the variability in the efficiency of tortricid biological control by impacting natural enemy communities. For instance, Nash et al. (2010) found an effect of season-long pesticide applications on arthropod community structure and showed that high pesticide metric scores negatively impact the activity levels of beneficial taxa, reducing the potential for biological control.

Beyond specific farming practices, organic systems promote the abundance and diversity levels of weeds and natural enemies (Bengtsson et al. 2005; Garratt et al. 2011; Tuck et al. 2014). Studies comparing organic and conventional farming in viticulture showed contrasting effects on natural enemies and biological pest control. For instance, Bruggisser et al. (2010) showed that organic farming promoted neither diversity nor abundance at any trophic level (plants, grasshoppers, and spiders) in Swiss vineyards. However, in intensive agricultural landscapes, organic farming favors a local plant species' richness (Nascimbene et al. 2012), and higher abundance and diversity levels of spiders and carabids have been found in organic farming compared with conventional farming (Gaigher and Samways 2010, 2014; Caprio et al. 2015). Despite a limited number of studies and some contradictory results, 6 out of 11 studies found on the Institute for Scientific Information's Web of Knowledge (currently Clarivate Analytics' Web of Science) reported that organic farming, compared with conventional farming, in vineyards tended to enhance the abundance and diversity levels of natural enemies (Caprio et al. 2015; Franin et al. 2016; Froidevaux et al. 2017; Geiger et al. 2010; Peverieri et al. 2009; Puig-Montserrat et al. 2017).

However, further research is needed to understand the context-dependent effects of organic farming. For instance, relatively few studies have simultaneously examined the effects of organic and conventional farming on pest communities and crop damage, and nothing is known about the effective level of pest control between organic and conventional farming. Thus, even if pest species benefit from organic farming, they would exert a higher pressure on grape production even if the level of natural pest control is higher. In Bordeaux vineyards, for instance, grape moths were less parasitized in organic farming systems than in conventional ones (Rusch et al. 2015). This apparently counterintuitive result indicates that more studies examine the local and landscape effects of organic farming on natural enemies, biological control, and pest damage.

5.3 Vineyard landscapes and natural biological control

Landscape context, both in terms of composition and configuration, as well as trophic interactions, in agricultural systems affects population and community dynamics (Tscharntke et al. 2007; Rusch et al. 2010). Recent meta-analyses highlighted that landscape simplification through the loss of seminatural habitats affects the abundance and diversity levels of natural enemies as well as the biological control level (Chaplin-Kramer et al. 2011; Rusch et al. 2016). The positive effect of seminatural habitats on natural enemies and biological pest control is that they provide key resources and functions for natural enemies, such as overwintering sites and refuges from disturbances, alternative hosts or prey, as well as sources of nectar or pollen (Rusch et al. 2010). For instance, several natural enemies overwinter in woody or grassy habitats (Sarthou et al. 2014). Therefore, the spatial distribution between overwintering habitats and crops determines the distribution of individuals in the landscape (Rand et al. 2006). These results strongly suggest that conservation biological control will benefit from a landscape perspective.

Several studies found that maintaining seminatural habitats within vineyard-dominated landscapes benefits natural enemies and the biological control of tortricid moths (Thomson and Hoffmann 2009, 2013; Thomson et al. 2010; Barbaro et al. 2017; Pithon et al. 2016). The mean abundance of natural enemies within a vineyard declines with the distance from woody vegetation, leading to the higher parasitism and predation levels of tortricid moths in vine rows closer to woody habitats (Thomson and Hoffmann 2013). This distance effect was detected up to 40 m from the woody vegetation, thus providing guidelines for landscape management to increase pest control services. In a recent study, Barbaro et al. (2017) found that habitat heterogeneity at both local and landscape scales influences avian insectivory in vineyards by interacting with the avian community structure. Foliage-gleaning insectivores were found to be more abundant in landscapes that supported more seminatural habitats, suggesting an increase

in their contribution to pest control along the gradient of landscape complexity.

In conclusion, local and landscape complexity levels, as well as their interactions, are key drivers of natural enemy communities and the biological control of tortricid moths in vineyard-dominated landscapes. However, we still lack a good mechanistic understanding of the relationships between the structure of natural enemy communities (e.g., taxonomic or functional) and the level of biological control. Thus, further studies combining data and molecular analyses are needed to identify the roles of trophic assemblages and to highlight the optimal structure of the food web that promotes the biological pest control of tortricid pests.

5.4 Effects of climate changes on tritrophic interactions and natural biological control

As ectotherms, insect pests are greatly sensitive to environmental temperature, which regulates metabolic reactions (Kingsolver 2009) and influences many physiological processes, such as growth (Angilletta et al. 2004), development (Zuo et al. 2012), reproduction (Fischer et al. 2003), and immune functions (Murdock et al. 2012). Such a temperature dependency is tightly linked to the ecology and evolution of life histories (Ragland and Kingsolver 2008) and, therefore, must be considered when attempting to develop sustainable biocontrol strategies against grapevine moths, especially in a changing environment. Global warming and the expected 0.3–4.8 °C increase in mean global surface temperature at the end of this century underscore the importance of this idea (Intergovernmental Panel on Climate Change 2014). This rapidly changing climatic context can be linked to the "hotter-is-better" hypothesis to predict how GBMs will impact vineyards under warmer environmental conditions. Indeed, this hypothesis postulates that ectothermic species adapted to warm conditions display the highest maximal fitness level and reach this optimum at high environmental temperatures (Kingsolver 2009; Knies et al. 2009). Thus, global warming benefits GBM by bringing the environmental temperature closer to their thermal optimum, especially in areas where thermal conditions remain colder than their thermal optimum (for instance, northern areas of the distribution range) (Deutsch et al. 2008). Thus, global warming may result in high GBM growth rates (Knies et al. 2009) and greater damage levels to crops. In addition to a direct thermal effect on GBM, global warming might also indirectly affect their performance by influencing two associated trophic levels: grapevine (Jones and Davis 2000) and natural enemies, like parasitoids (see Hance et al. 2007; Reineke and Thiéry 2016 for reviews). We summarize here several impacts of climate change on the physiology of grapevine moths and its consequences in terms of yield losses and pest management strategies.

Like many insects, *L. botrana* exhibits a higher developmental rate when exposed to warmer conditions (Torres-Villa 1996; Martín-Vertedor et al. 2010). Additionally, temperature is an environmental factor that triggers the termination of diapause in this species (Roditakis and Karandinos 2001). As a consequence, mild early springs promote a significant advance in the first emergence wave of adults from overwintering pupae and impact the voltinism of this species (Martín-Vertedor et al. 2010; Reineke and Thiéry 2016). For instance, in 2006, warmer conditions allowed the emergence of a fourth generation of *L. botrana* in Mediterranean areas, even though this species is usually trivoltine (Martín-Vertedor et al. 2010). This additional generation likely intensified the pressure exerted on crops (see Caffarra et al. 2012 and references therein). However, grapes also respond to global warming by shifting to an earlier phenology (e.g., earlier bud burst and blooming), which results in a significant advance in harvest dates and a shortened crop life cycle. This is observed in France where winegrowers are currently collecting grape bunches almost 1 month earlier than during the last 50 years (Jones and Davis 2000; Seguin and de Cortazar 2005; Schultz and Jones 2010). By doing so, they remove the resources that potentially allow the complete development of the late-season generation of the pests and their overwintering as diapausing pupae (Martín-Vertedor et al. 2010; Caffarra et al. 2012; Reineke and Thiéry 2016). Despite these potential benefits of global warming for the control of GBM populations, harvest dates are not just determined by temperature but also by grapevine variety, which influences plant phenology (Jones and Davis 2000). Consequently, it could be hypothesized that early ripening varieties, like Chardonnay, would be less prone to the detrimental effects of an additional GBM generation than late ripening varieties that would be exposed to the late pest generation before harvest (Caffarra et al. 2012). The detrimental effects of an additional generation on vine production could, therefore, be modulated by grape cultivars and the corresponding plant phenology.

Faster GBM development may influence their interactions with enemies naturally present or released in vineyards (see Section 3) and the associated consequences on biological control strategies that rely on these natural enemies. Temperature is a decisive factor modulating the ability of pests to fight against parasitoids through behavioral or their immune responses. To our knowledge, no study to date has investigated the direct effects of contrasting thermal conditions on the ability of GBMs to resist parasitoid pressure. However, recent results suggest that GBMs' immune functions can be modulated in the field by temperature (Vogelweith et al. 2013). In the scenario of a rising global temperature, the increased immune functions of grapevine pests would be problematic because they enhance the pests' ability to resist natural enemies, especially parasitoids, which decreases the effectiveness of biocontrol programs.

6 Perspectives and conclusions

The body of knowledge we have reviewed highlights several key factors operating at multiple spatial scales that influence the biological control of grapevine moths. We particularly show that host plant, farming practices at the field scale, and landscape context, as well as climate change, are driving grapevine moth population dynamics through direct effects on pest populations or indirect effects mediated by their natural enemies. This review also provides a framework for understanding the context dependency of the efficiency of biological control programs targeted against these insect pests.

6.1 Challenges for research

Several research avenues addressing the biological control of grapevine moths clearly need further investigation. This includes the diversity of macroorganisms that participate in the biological control of grape pests. In addition to parasitoids, spiders and harvestmen are clearly important components of predator webs. However, their biology, behavior, and more generally, life history traits should be further investigated. Progress in barcoding techniques should also allow deeper investigations into the functional ecology of food webs and into who eats whom and at what intensity level. Our understanding of these parameters is increasing in several agrosystems, including vineyards, in which there is a particular focus on predators of grape berry moths. This research should provide rapid progress that is accessible to grape growers. Understanding factors that influence host/prey quality is also crucial for avoiding unsuspected failures in biological control. Research on the roles played by the pest host plant should therefore be intensified for the induction of pest resistance, including the immune system expression, to biocontrol agents. Additionally, in our opinion, the possible attraction and arrestment roles of maternal pheromones (see Section 3) should receive more attention. The regulation of natural enemies by landscape factors, including plant biodiversity and especially floral interrow plantings, is now being studied in vineyards. These efforts should be intensified, especially identifying which types of flowers provide the best fitness gains for parasitoids and predators.

6.2 Challenges for growers and crop protection advisors

The main new finding that can be quickly implemented to help protect grapes from grape moths is the installation of grass or flower strips in vineyards to favor natural enemy activity. The reduction of insecticide use is now in progress in most European grape-producing countries, and this will favor the use of biological controls. Control practices, like the use of mating disruption or *B. thuringiensis*, should also be developed because limited harmful effects on biodiversity have been reported. Very recent results also indicate that the organic production of grape favors increased biodiversity and the capability of natural control (Muneret et al. 2017). These practices could be quickly implemented in viticulture.

All of the studies we reviewed illustrated that many factors influence the efficiency of biological control. Additionally, the impact of global warming on *L. botrana* is complex and thus hard to predict, being dependent on coevolutionary plant–pest and pest–parasitoid mechanisms in the context of tritrophic interactions. Deeper insights into these coevolutionary mechanisms in the face of climate change will be needed to improve our predictions of the future impact of pests and, subsequently, the use of biocontrol strategies. In addition, we emphasized the need for improved knowledge of trophic relationships between natural enemies and GBM in vineyards to predict the level of tortricid control. Determining the roles of the different species involved in grape moth regulation, as well as considering the whole community, is a major challenge in enhancing biological control in actual and future vineyard systems. The reduction of insecticide consumption in European viticulture requires that obstacles to biocontrol be addressed and that several biological control strategies be developed.

Acknowledgements We thank Dr. Lesley Benyon, PhD, from Edanz Group for editing a final draft of this manuscript and two anonymous reviewers for improving the manuscript.

Funding information The two PhD students (LM and CI) were respectively funded by a French Fund for Research on Biodiversity (FRB) Région Nouvelle Aquitaine and a French Ministry of Research RT grants. The French Casdar Project Biocontrôle as well as the SOLUTION project (FRB) funded some results presented here. We also thank the Conseil Régional of Bourgogne (FABER).

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

Abrol DP, Shankar U (2012) History, overview and principles of ecologically based pest management. Integrated pest management: principles and practice. ABI Publishing, Wallingford. https://doi.org/10.1079/9781845938086.0001

Agusti N, Bourguet D, Spataro T, Delos M, Eychenne N, Folcher L, Arditi R (2005) Detection, identification and geographical distribution of European corn borer larval parasitoids using molecular markers. Mol Ecol 14:3267–3274. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02650.x

Altieri MA, Nicholls CI (2002) The simplification of traditional vineyard based agroforests in northwestern Portugal: some ecological implications. Agrofor Syst 56:185–191

Andow DA (1991) Vegetational diversity and arthropod population response. Annu Rev Entomol 36:561–586

Angilletta MJ, Steury TD, Sears MW (2004) Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. Integr Comp Biol 44:498–509. https://doi.org/10.1093/icb/44.6.498

Audouin V (1842) Histoire des insectes nuisibles de la vigne et particulièrement de la pyrale. Fortin Masson et cie, Paris

Bael SAV, Philpott SM, Greenberg R, Bichier P, Barber NA, Mooney KA, Gruner DS (2008) Birds as predators in tropical agroforestry systems. Ecology 89:928–934. https://doi.org/10.1890/06-1976.1

Barbaro L, Rusch A, Muirir E, Gravellier B, Thiery D, Castagneyrol B (2017) Avian pest control in vineyards is driven by interactions between bird functional diversity and landscape heterogeneity. J Appl Ecol 54:500–508. https://doi.org/10.1111/1365-2664.12740

Barnay O, Pizzol J, Gertz C, Kienlen JC, Hommay G, Lapchin L (1999) Host density-dependance of discovery and exploitation rates of egg patches of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Ephestia kunhiella* (Lepidoptera: Pyralidae) by the parasitoid *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J Econ Entomol 92: 1311–1320

Begum M, Gurr GM, Wratten SD, Hedberg PR, Nicol HI (2006) Using selective food plants to maximize biological control of vineyard pests. J Appl Ecol 43:547–554. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2006.01168.x

Bengtsson J, Ahnström J, Weibull AC (2005) The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. J Appl Ecol 42:261–269. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x

Benrey B, Denno RF (1997) The slow-growth-high mortality hypothesis: a test using the cabbage butterfly. Ecology 78:987–999

Berndt LA, Wratten SD, Hassan PG (2002) Effects of buckwheat flowers on leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) parasitoids in a New Zealand vineyard. Agric For Entomol 4:39–45

Berndt LA, Wratten SD, Scarratt SL (2006) The influence of floral resource subsidies on parasitism rates of leafrollers (Lepidoptera: Tortricidae) in New Zealand vineyards. Biol Control 37:50–55. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.12.005

Birkhofer K, Bylund H, Dalin P, Ferlian O, Gagic V, Hambäck PA, Klapwijk M, Mestre L, Roubinet E, Schroeder M, Stenberg JA, Porcel M, Björkman C, Jonsson M (2017) Methods to identify the prey of invertebrate predators in terrestrial field studies. Ecol Evol 7: 1942–1953. https://doi.org/10.1002/ece3.2791

Bolduc E, Buddle CM, Bostanian NJ, Vincent C (2005) Ground-dwelling spider fauna (Araneae) of two vineyards in southern Quebec. Environ Entomol 34:635–645. https://doi.org/10.1603/0046-225X-34.3.635

Boreau de Roincé C, Lavigne C, Ricard JM, Franck P, Bouvier JC, Garcin A, Symondson WO (2012) Predation by generalist predators on the codling moth versus a closely-related emerging pest the oriental fruit moth: a molecular analysis. Agric For Entomol 14:260–269. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2011.00564.x

Boyer S, Zhang H, Lempérière G (2012) A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. Bull Entomol Res 102:213–229. https://doi.org/10.1017/S0007485311000654

Brewer MJ, Goodell PB (2012) Approaches and incentives to implement integrated pest management that addresses regional and environmental issues. Annu Rev Entomol 57:41–59. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120709-144748

Bruggisser OT, Schmidt-Entling MH, Bacher S (2010) Effects of vineyard management on biodiversity at three trophic levels. Biol Conserv 143:1521–1528. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.03.034

Butault J-P, Dedryver C-A, Gary C, Guichard L, Jacquet F, Meynard JM, Nicot P, Pitrat M, Reau R, Sauphanor B, Savini I, Volay T (2010) Synthèse du rapport d'étude Écophyto R&D: quelles voies pour réduire l'usage des pesticides? INRA Editions. Hal: hal-01172967

Caffarra A, Rinaldi M, Eccel E, Rossi V, Pertot I (2012) Modelling the impact of climate change on the interaction between grapevine and its pests and pathogens: European grapevine moth and powdery mildew. Agric Ecosyst Environ 148:89–101. https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.11.017

Caprio E, Nervo B, Isaia M, Allegro G, Rolando A (2015) Organic versus conventional systems in viticulture: comparative effects on spiders and carabids in vineyards and adjacent forests. Agric Syst 136:61–69. https://doi.org/10.1016/j.agsy.2015.02.009

Cerenius L, Söderhäll K (2004) The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. Immunol Rev 198:116–126. https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00116.x

Chaplin-Kramer R, O'Rourke ME, Blitzer EJ, Kremen C (2011) A meta-analysis of crop pest and natural enemy response to landscape complexity. Ecol Lett 14:922–932. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01642.x

Charbonnier Y, Barbaro L, Theillout A, Jactel H (2014) Numerical and functional responses of forest bats to a major insect pest in pine plantations. PLoS One 9(10):e109488. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109488

Chuche J, Xuéreb A, Thiéry D (2006) Attraction of *Dibrachys cavus* (Hymenoptera: Pteromalidae) to its host frass volatiles. J Chem Ecol 32:2721–2731. https://doi.org/10.1007/s10886-006-9195-8

Cozzi G, Pascale M, Perrone G, Visconti A, Logrieco A (2006) Effect of *Lobesia botrana* damages on black *aspergilli*'s rot and ochratoxin A content in grapes. Int J Food Microbiol 111:88–92. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.03.012

Crowder DW, Northfield TD, Strand MR, Snyder WE (2010) Organic agriculture promotes evenness and natural pest control. Nature 466: 109–112. https://doi.org/10.1038/nature09183

Danne A, Thomson LJ, Sharley DJ, Penfold CM, Hoffmann AA (2010) Effects of native grass cover crops on beneficial and pest invertebrates in Australian vineyards. Environ Entomol 39:970–978. https://doi.org/10.1603/EN09144

Delbac L, Thiéry D (2016) Damage to grape flowers and berries by *Lobesia botrana* larvae (Denis & Schiffernüller) (Lepidoptera: Tortricidae) and relation to larval age. Aust J Grape Wine Res 22(2):256–261. https://doi.org/10.1111/ajgw.12204

Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu Rev Entomol 52:81–106. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440

Dhaliwal GS, Jindal V, Dhawan AK (2010) Insect pest problems and crop losses: changing trends. Indian J Ecol 37:1–7

Ehler LE (2006) Integrated pest management (IPM): definition, historical development and implementation, and the other IPM. Pest Manag Sci 62:787–789

Endure (2006). Pesticide use in viticulture, available data on current practices and innovations, bottlenecks and need for research in this field and specific leaflets analysing the conditions of adoption of some innovations, EC project deliverable DR1.23, 35p

Fatouros NE, Dicke M, Mumm R, Meiners T, Hilker M (2008) Foraging behaviour of egg parasitoids exploiting chemical information. Behav Ecol 19:677–689. https://doi.org/10.1093/beheco/arn011

Ferguson HM, John B, Ng'habi K, Knols BG (2005) Redressing the sex imbalance in knowledge of vector biology. Trends Ecol Evol 20: 202–209. https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.003

Fischer K, Brakefield PM, Zwaan BJ (2003) Plasticity in butterfly egg size: why larger offspring at lower temperatures? Ecology 84:3138–3147. https://doi.org/10.1890/02-0733

Franin K, Barić B, Kuštera G (2016) The role of ecological infrastructure on beneficial arthropods in vineyards. Span J Agric Res 14:303–311. https://doi.org/10.5424/sjar/2016141-7371

Frank SD, Wratten SD, Sandhu HS, Shrewsbury PM (2007) Video analysis to determine how habitat strata affects predator diversity and predation of *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera: Tortricidae) in a vineyard. Biol Control 41(2):230–236

Frenoy C, Durier C, Hawlitzky N (1992) Effect of kairomones from egg and female-adult stages of *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera:

Pyralidae) on *Trichogramma brassicae* Bedzdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) female kinesis. J Chem Ecol 18(5):761–773

Froidevaux JSP, Louboutin B, Jones G (2017) Does organic farming enhance biodiversity in Mediterranean vineyards? A case study with bats and arachnids. Agric Ecosyst Environ 249:112. https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.08.012

Gabel B, Thiéry D (1992) Biological evidence of an oviposition deterring pheromone in *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). J Chem Ecol 18:353–358

Gabel B, Thiéry D (1994) Non-host plant odour (*Tanacetum vulgare*; Asteraceae) affects the reproductive behaviour of *Lobesia botrana* Den. et Schiff (Lepidoptera: Tortricidae). J Insect Behav 7:149–157

Gabel B, Thiéry D (1996) Oviposition response of *Lobesia botrana* females to long-chain free fatty acids and esters from its eggs. J Chem Ecol 22:161–171

Gaigher R, Samways MJ (2010) Surface-active arthropods in organic vineyards, integrated vineyards and natural habitat in the Cape Floristic Region. J Insect Conserv 14:595–605. https://doi.org/10.1007/s10841-010-9286-2

Gaigher R, Samways MJ (2014) Landscape mosaic attributes for maintaining ground-living spider diversity in a biodiversity hotspot. Insect Conserv Div 7:470–479. https://doi.org/10.1111/icad.12070

Garratt MPD, Wright DJ, Leather SR (2011) The effects of farming system and fertilisers on pests and natural enemies: a synthesis of current research. Agric Ecosyst Environ 141:261–270. https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.03.014

Geiger F, Bengtsson J, Berendse F, Weisser WW, Emmerson M, Morales MB, Onate JJ, Eggers S, Pärt T, Bommarco R, Bengtsson L, Clement LW, Weisser WW, Olszewski A, Ceryngier P, Hawro V, Inchausti P, Fischer C, Flohre A, Thies C, Tscharntke T (2010) Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. Basic Appl Ecol 11:97–105. https://doi.org/10.1016/j.baae.2009.12.001

Genini M (2000) Faune épigée de la vigne et des milieux environnants. Rev Suisse Vitic Arboric Hortic 32:1–12

Glen DM (1977) Predation of codling moth eggs, *Cydia pomonella*, the predators responsible and their alternative prey. J Appl Ecol 14(2): 445–456

Glen DM, Milsom NF (1978) Survival of mature larvae of codling moth (*Cydia pomonella*) on apple trees and ground. Ann Appl Biol 90: 133–146

Glenn DC, Hoffmann AA (1997) Developing a commercially viable system for biological control of light brown apple moth (Lepidoptera: Tortricidae) in grapes using endemic Trichogramma (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J Econ Entomol 90:370–338

Goulet H, Lesage L, Bostanian NJ, Vincent C, Lasnier J (2004) Diversity and seasonal activity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in two vineyards of southern Quebec, Canada. Ann Entomol Soc Am 97(6):1263–1272

Greeney HF, Dyer L, Smilanich M (2012) Feeding by lepidopteran larvae is dangerous: a review of caterpillars' chemical, physiological, morphological, and behavioral defenses against natural enemies. Invertebr Surviv J 9:7–34

Haine ER, Moret Y, Siva-Jothy MT, Rolff J (2008) Antimicrobial defense and persistent infection in insects. Science 322:1257–1259. https://doi.org/10.1126/science.1165265

Hallenbeck WH, Cunningham-Burns KM (1995) Pesticides and human health. University of Illinois, Springer, Chicago

Hance T, van Baaren J, Vernon P, Boivin G (2007) Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. Annu Rev Entomol 52:107–126. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091333

Hogg BN, Daane KM (2010) The role of dispersal from natural habitat in determining spider abundance and diversity in California vineyards. Agric Ecosyst Environ 135:260–267. https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.10.004

Hommay G, Gertz C, Kienlen JC, Pizzol J, Chavigny P (2002) Comparison between the control efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and two *Trichogramma cacoeciae*. Biocontrol Sci Tech 12(5):569–581

Hommay G, Kienlen JC, Gertz C, Bihri C, Pizzol J (2011) Factors affecting the post release dispersal of *Trichogramma cacoeciae* Marchal in the vineyards. IOBC/WPRS Bull 67:207–214

Howe A, Lövei GL, Nachman G (2009) Dummy caterpillars as a simple method to assess predation rates on invertebrates in a tropical agroecosystem. Entomol Exp Appl 131:325–329. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00860.x

Hrcek JAN, Miller SE, Quicke DL, Smith M (2011) Molecular detection of trophic links in a complex insect host–parasitoid food web. Mol Ecol Res 11:786–794. https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03016.x

Intergovernmental Panel on Climate Change (2014) Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: global and sectoral aspects. Contributions of working group II to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press, Cambridge. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415379

Ioriatti C, Anfora G, Tasin M, de Cristofaro A, Witzgall P, Lucchi A (2011) Chemical ecology and management of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). J Eco Entomol 104:1125–1137. https://doi.org/10.1603/EC10443

Jedlicka JA, Greenberg R, Letourneau DK (2011) Avian conservation practices strengthen ecosystem services in California vineyards. PLoS One 6:e27347. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027347

Jedlicka JA, Letourneau DK, Cornelisse TM (2014) Establishing songbird nest boxes increased avian insectivores and reduced herbivorous arthropods in a Californian vineyard, USA. Conserv Evid 11: 34–38

Jolicoeur H (1894) Les ravageurs de la vigne. Michaud publication, Reims

Jones GV, Davis RE (2000) Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. Am J Viti Enol 51:249–261

Jourdie V, Alvarez N, Turlings TCJ (2008) Identification of seven species of hymenopteran parasitoids of *Spodoptera frugiperda*, using polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion. Agric For Entomol 10(2):129–136. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2008.00362.x

Karimzadeh J, Wright DJ (2008) Bottom-up cascading effects in a tritrophic system: interactions between plant quality and host-parasitoid immune responses. Ecol Entomol 33:45–52. https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2007.00933.x

Karp DS, Mendenhall CD, Sandí RF, Chaumont N, Ehrlich PR, Hadly EA, Daily GC (2013) Forest bolsters bird abundance, pest control and coffee yield. Ecol Lett 16:1339–1347. https://doi.org/10.1111/ele.12173

Kingsolver JG (2009) ASN Presidential Address: the well-temperatured biologist. Am Nat 174:755–768

Knies JL, Kingsolver JG, Burch CL (2009) Hotter is better and broader: thermal sensitivity of fitness in a population of bacteriophages. Am Nat 173:419–430. https://doi.org/10.1086/597224

Kogan M (1998) Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. Annu Rev Entomol 43:243–270

Lavine MD, Strand MR (2002) Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Biochem Mol Biol 32:1295–1309

Lazzaro BP, Little TJ (2009) Immunity in a variable world. Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci 364:15–26

Letourneau DK, Jedlicka JA, Bothwell SG, Moreno CR (2009) Effects of natural enemy biodiversity on the suppression of arthropod herbivores in terrestrial ecosystems. Annu Rev Ecol Evol Syst 40:573–592. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120320

Letourneau DK, Armbrecht I, Rivera BS, Lerma JM, Carmona EJ, Daza MC, Escobar S, Galindo V, Gutiérrez C, López SD, Mejía JL, Rangel AMA, Rangel JH, Rivera L, Saavedra CA, Torres AM, Trujillo AR (2011) Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. Ecol Appl 21:9–21. https://doi.org/10.1890/09-2026.1

Loni A, Samartsev KG, Scaramozzino PL, Belokobylskij SA, Lucchi A (2016) Braconinae parasitoids (Hymenoptera, Braconidae) emerged from larvae of *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Tortricidae) feeding on *Daphne gnidium* L. ZooKeys 587:125–150. https://doi.org/10.3897/zookeys.587.8478

Loreau M, Hector A (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. Nature 412:72–76. https://doi.org/10.1038/35083573

Maas B, Clough Y, Tscharntke T (2013) Bats and birds increase crop yield in tropical agroforestry landscapes. Ecol Lett 16:1480–1487. https://doi.org/10.1111/ele.12194

Macfadyen S, Gibson R, Polaszek A, Morris RJ, Craze PG, Planque R, Symondson WO, Memmott J (2009) Do differences in food web structure between organic and conventional farms affect the ecosystem service of pest control? Ecol Lett 12:229–238. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01279.x

Marchal P, Feytaud J (1911) Sur un parasite des œufs de la cochylis et de l'eudémis. C R Acad Sci 153:633–635

Martin EA, Reineking B, Seo B, Steffan-Dewenter I (2013) Natural enemy interactions constrain pest control in complex agricultural landscapes. Proc Natl Acad Sci U S A 110:5534–5539. https://doi.org/10.1073/pnas.1215725110

Martín-Vertedor D, Ferrero-García J, Torres-Vila LM (2010) Global warming affects phenology and voltinism of *Lobesia botrana* in Spain. Agric For Entomol 12:169–176. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2009.00465.x

Mills NJ, Danne KM (2005) Biological and cultural controls. Non pesticide alternative can suppress crop pests. Calif Agric 59:23–28

Milonas PG, Martinou AF, Kontamida DC, Karamaouna F, Kostantopoulou (2009) Attraction of different trichogramma species to parys olea sex pheromone. Ann Entomol Soc Amer 102:1145–1150

Moreau J, Benrey B, Thiéry D (2006a) Assessing larval food quality for phytophagous insects: are the fact as simple as they appear? Funct Ecol 20:592–600. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01145.x

Moreau J, Benrey B, Thiéry D (2006b) Grape variety affects larval performance and also female reproductive performance of the European grapevine moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Bull Entomol Res 96:205–212. https://doi.org/10.1079/BER2005417

Moreau J, Richard A, Benrey B, Thiéry D (2009) Host plant cultivar of the grapevine moth *Lobesia botrana* affects the life history traits of an egg parasitoid. Biol Control 50:117–122. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.03.017

Moreau J, Villemant C, Benrey B, Thiéry D (2010) Species diversity and composition of larval parasitoids of the European grapevine moth (*Lobesia botrana*): the influence of region and cultivar. Biol Control 54:300–306. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.05.019

Moreau J, Monceau K, Thiéry D (2016) Larval food influences oviposition dynamics and egg quality traits in females of *Lobesia botrana*. J Pest Sci 89:439–448

Moret Y, Schmid-Hempel P (2000) Survival for immunity: the price of immune system activation for bumblebee workers. Science 290:1166–1168

Muller K, Vogelweith F, Thiéry D, Moret Y, Moreau J (2015) Immune benefits from alternative host plants could maintain polyphagy in a phytophagous insect. Oecologia 177:467–475. https://doi.org/10.1007/s00442-014-3097-1

Muneret L, Thiéry D, Joubard B, Rusch A (2017) Deployment of organic farming at landscape scale maintains low pest infestation and high crop productivity in vineyards. J Appl Ecol 1–10. doi: https://doi.org/10.1111/1365-2664.13034

Murdock CC, Paaijmans KP, Cox-Foster D, Read AF, Thomas MB (2012) Rethinking vector immunology: the role of environmental temperature in shaping resistance. Nat Rev Microbiol 10:869–876. https://doi.org/10.1038/nrmicro2900

Nagarkatti S, Tobin C, Saunders MC, Muza AJ (2003) Release of native *Trichogramma minutum* to control grapeberry moth. Can Entomol 135:589–598. https://doi.org/10.4039/n02-099

Naranjo SE, Ellsworth PC (2009) Fifty years of the integrated control concept: moving the model and implementation forward in Arizona. Pest Manag Sci 65:1267–1286. https://doi.org/10.1002/ps.1861

Nascimbene J, Marini L, Paoletti MG (2012) Organic farming benefits local plant diversity in vineyard farms located in intensive agricultural landscapes. Environ Manag 49:1054–1060. https://doi.org/10.1007/s00267-012-9834-5

Nash MA, Hoffmann AA, Thomson LJ (2010) Identifying signature of chemical applications on indigenous and invasive nontarget arthropod communities in vineyards. Ecol Appl 20:1693–1703

Oerke EC (2006) Crop losses to pests. J Agri Sci 144:31–43

Otway SJ, Hector A, Lawton JH (2005) Resource dilution effects on specialist insect herbivores in a grassland biodiversity experiment. J Anim Ecol 74:234–240

Papura D, Rusch A, Roux P, Delbac L, Thiéry D (2016) Early detection and identification of larval parasitoids in *Lobesia botrana* using PCR-RFLP method. Biol Control 103:95–100

Paull C, Austin AD (2007) The hymenopteran parasitoids of light brown apple moth, *Epiphyas postvittana* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae) in Australia. Aust J Entomol 45(2006):142–156. https://doi.org/10.1111/j.1440-6055

Pérez-Staples D, Shelly TE, Yuval B (2012) Female mating failure and the failure of 'mating' in sterile insect programs. Entomol Exp Appl 146:66–78

Pertot I, Caffi T, Mugnai L, Hoffmann C, Grando MS, Gary C, Lafond D, Duso C, Thiéry D, Mazzoni V, Anfora G (2017) A critical review of plant protection tools for reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for implementation of IPM in viticulture. Crop Protec 97:70–84. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.025

Peverieri GS, Simoni S, Goggioli D, Liguori M, Castagnoli M (2009) Effects of variety and management practices on mite species diversity in Italian vineyards. Bull Insectol 62(1):53–60

Pithon JA, Beaujouan V, Daniel H, Pain G, Vallet J (2016) Are vineyards important habitats for birds at local or landscape scales? Basic Appl Ecol 17:240–251

Plath M, Dorn S, Riedel J, Barrios H, Mody K (2012) Associational resistance and associational susceptibility: specialist herbivores show contrasting responses to tree stand diversification. Oecologia 169:477–487

Ponton F, Wilson K, Cotter SC, Raubenheimer D, Simpson SJ (2011) Nutritional immunology: a multi-dimensional approach. PLoS Pathog 7:e1002223

Poppy G (1997) Tritrophic interactions: improving ecological understanding and biological control? Endeavour 21:61–65

Puig-Montserrat X, Stefanescu C, Torre I, Palet J, Fàbregas E, Dantart J, Arrizabalaga A, Flaquer C (2017) Effects of organic and conventional crop management on vineyard biodiversity. Agric Ecosyst Environ 243:19–26

Ragland GJ, Kingsolver JG (2008) The effect of fluctuating temperatures on ectotherm life-history traits: comparisons among geographic populations of *Wyeomyia smithii*. Evol Ecol Res 10:29–44

Rand TA, Tylianakis JM, Tscharntke T (2006) Spillover edge effects: the dispersal of agriculturally subsidized insect natural enemies into adjacent natural habitats. Ecol Lett 9:603–614. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00911.x

Reda Abd el Monsef AI (2004) Biological control of grape berry moths *Eupoecilia ambiguella* HB and *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera Tortricidae) by using egg parasitoids of the genus Trichogramma. Dissertation, Universität Giesen

Reineke A, Thiéry D (2016) Grapevine insect pests and their natural enemies in the age of global warming. J Pest Sci 89:313–328. https://doi.org/10.1007/s10340-016-0761-8

Roberts MJ (2009) Guide des araignées de France et d'Europe: Plus de 450 Espèces Décrites et Illustrées. Delachaux et Niestlé

Roditakis NE, Karandinos MG (2001) Effects of photoperiod and temperature on pupal diapause induction of grape berry moth *Lobesia botrana*. Physiol Entomol 26:329–340

Root RB (1973) Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). Ecol Monogr 43:95–124

Roush R, Tabashnik BE (1990) Pesticide resistance in arthropods. Chapman and Hall, London

Rusch A, Valantin-Morison M, Sarthou JP, Roger-Estrade J (2010) Biological control of insect pests in agroecosystems: effects of crop management, farming systems, and seminatural habitats at the landscape scale: a review. Adv Agron 109:219–259. https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)09006-1

Rusch A, Bommarco R, Jonsson M, Smith HG, Ekbom B (2013) Flow and stability of natural pest control services depend on complexity and crop rotation at the landscape scale. J Appl Ecol 50:345–354. https://doi.org/10.1111/1365-2664.12055

Rusch A, Delbac L, Muneret L, Thiéry D (2015) Organic farming and host density affect parasitism rates of tortricid moths in vineyards. Agr Ecosyst Environ 214:46–53. https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.08.019

Rusch A, Chaplin-Kramer R, Gardiner MM, Hawro V, Holland J, Landis D, Thies C, Tscharntke T, Weisser WW, Winqvist C (2016) Agricultural landscape simplification reduces natural pest control: a quantitative synthesis. Agr Ecosyst Environ 221:198–204. https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.039

Rusch A, Bommarco R, Ekbom B (2017a) Conservation biological control in agricultural landscapes. In: Sauvion N, Calatayud PA, Thiéry D (eds) Insect plant interactions in a crop protection perspective. Adv Bot Res 81:333–360. https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.11.001

Rusch A, Delbac L, Thiéry D (2017b) Grape moth density in Bordeaux vineyards depends on local habitat management despite effects of landscape heterogeneity on their biological control. J Appl Ecol 54:1794–1803. https://doi.org/10.1111/1365-2664.12858

Rydell J, Entwistle A, Racey PA (1996) Timing and foraging flights of three species of bats in relation to insect activity and predation risk. Oikos 76:243–252

Sarthou JP, Badoz A, Vaissière B, Chevallier A, Rusch A (2014) Local more than landscape parameters structure natural enemy communities during their overwintering in semi-natural habitats. Agric Ecosyst Environ 194:17–28. https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.04.018

Schellhorn NA, Gagic V, Bommarco R (2015) Time will tell: resource continuity bolsters ecosystem services. Trends Ecol Evol 30:524–530. https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.06.007

Schultz HR, Jones GV (2010) Climate induced historic and future changes in viticulture. J Wine Res 21:137–145. https://doi.org/10.1080/09571264.2010.530098

Seguin B, de Cortazar IG (2005) Climate warming: consequences for viticulture and the notion of 'terroirs' in Europe. Acta Hortic 689:61–71. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.689.3

Sentenac G (2011) La faune auxiliaire des vignobles de France. Editions France Agricole, Paris

Sharley DJ, Hoffmann AA, Thomson LJ (2008) The effects of soil tillage on beneficial invertebrates within the vineyard. Agric For Entomol 10:233–243. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2008.00376.x

Shields MW, Tompkins J, Saville DJ, Meurk CD, Wratten S (2016) Potential ecosystem service delivery by endemic plants in New Zealand vineyards: successes and prospects. PeerJ 4:e2042. https://doi.org/10.7717/peerj.2042

Siva-Jothy MT, Moret Y, Rolff J (2005) Insect immunity: an evolutionary ecology perspective. Adv Insect Physiol 32:1–48. https://doi.org/10.1016/S0065-2806(05)32001-7

Skopura JP, Hothem RL (1985) Consumption of commercially-grown grapes by american robins: a field evaluation of laboratory estimates. J Field Ornithol 56(4):369–378

Speakman JR, Rydell J (2000) Avoidance behaviour of bats and moths: when is it predator defence? Oikos 88:221–223

Straub CS, Finke DL, Snyder WE (2008) Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? Biol Control 45:225–237

Thacker JRM (2002) An introduction to arthropod pest control. Cambridge University Press, Cambridge

Thiéry D (2008) Les tordeuses nuisibles à la vigne. In: Esmenjaud D, Kreiter S, Martinez M, Sforza R, Thiéry D, van Helden M, Yvon M (eds) Les ravageurs de la vigne. Féret Publication, pp 214–246

Thiéry D (2011) Gaps in knowledge for modern integrated protection in viticulture: lessons from controlling grape berry moths. IOBC/WPRS Bull 67:305–311

Thiéry D, Visser JH (1986) Masking of host plant odour in the olfactory orientation of the Colorado potato beetle. Entomol Exp Appl 41:165–172

Thiéry D, Gabel B, Farkas P, Jarry M (1995) Egg dispersion in codling moth: influence of egg extract and of its fatty acid constituents. J Chem Ecol 21:2015–2026

Thiéry D, Xuéreb A, Villemant C, Sentenac G, Delbac L, Kuntzman P (2001) Les parasites de tordeuses de vignobles : aperçu de quelques espèces présentes dans 3 régions viticoles françaises. IOBC/WPRS Bull 24(7):135–141

Thiéry D, Yoshida T, Guisset M (2006) *Phytomyptera nigrina* (Meigen) (Diptera, Tachinidae) parasite of the first generation of the European grapevine moth larvae in several vineyards of the Roussillon area. Tachinid Times 19:1–4

Thiéry D, Carton Y, Vidal C, Gauthier N, Derridj S, Vercambre B, Goebel F-R, Grégoire J-C, Lieutier F (2011a) Histoire de l'installation de quelques ravageurs. In: Sauvion N, Calatayud PA, Thiéry D, Marion-Poll F (eds) Interactions Insectes plantes. Quae-ird Publication, pp 623–673

Thiéry D, Delbac L, Villemant C, Moreau J (2011b) Control of grape berry moth larvae using parasitoids: should it be developed? IOBC/WPRS Bull 67:189–196

Thiéry D, Monceau K, Moreau J (2014) Larval intraspecific competition for food in the European grapevine moth *Lobesia botrana*. Bull Entomol Res 104:517–524. https://doi.org/10.1017/S0007485314000273

Thomas MB (1999) Ecological approaches and the development of "truly integrated" pest management. Proc Nat Acad Sci 96:5944–5951

Thomson LJ, Hoffmann AA (2007) Effects of ground cover (straw and compost) on the abundance of natural enemies and soil macro invertebrates in vineyards. Agric For Entomol 9:173–179. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2007.00322.x

Thomson LJ, Hoffmann AA (2009) Vegetation increases the abundance of natural enemies in vineyards. Biol Control 49:259–269. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.01.009

Thomson LJ, Hoffmann AA (2013) Spatial scale of benefits from adjacent woody vegetation on natural enemies within vineyards. Biol Control 64:57–65. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.09.019

Thomson LJ, Macfadyen S, Hoffmann AA (2010) Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. Biol Control 52:296–306. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.01.022

Thorbek P, Bilde T (2004) Reduced numbers of generalist arthropod predators after crop management. J Appl Ecol 41:526–538. https://doi.org/10.1111/j.0021-8901.2004.00913.x

Tilman D, Balzer C, Hill J, Befort BL (2011) Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. Proc Nat Acad Sci 108: 20260–20264. https://doi.org/10.1073/pnas.1116437108

Tonhasca A, Byrne DN (1994) The effects of crop diversification on herbivorous insects: a meta-analysis approach. Ecol Entomol 19: 239–244

Torres-Vila LM, Stockel J, Roehrich R, Rodriguez-Molina MC (1997) The relation between dispersal and survival of *Lobesia botrana* larvae and their density in vine inflorescences. Entomol Exp Appl 84: 109–114

Torres-Villa LM (1996) Efecto de la temperatura de desarrollo preimaginal sobre el potencial biótico de la pollila del racimo de la vid, *Lobesia botrana* (Denis y Schiffermüller, [1775]) (Lepidoptera : Tortricidae). SHILAP Revta Lepid 24:197–206

Traugott M, Zangerl P, Juen A, Schallhart N, Pfiffner L (2006) Detecting key parasitoids of lepidopteran pests by multiplex PCR. Biol Control 39:39–46. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.03.001

Tscharntke T, Bommarco R, Clough Y, Crist TO, Kleijn D, Rand TA, Tylianakis JM, van Nouhuys S, Vidal S (2007) Conservation biological control and enemy diversity on a landscape scale. Biol Control 43:294–309. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.006

Tuck SL, Winqvist C, Mota F, Ahnström J, Turnbull LA, Bengtsson J (2014) Land-use intensity and the effects of organic farming on biodiversity: a hierarchical meta-analysis. J Appl Ecol 51:746–755. https://doi.org/10.1111/1365-2664.12219

Unruh TR, Miliczky ER, Horton DR, Thomsen-Archer K, Rehfield-Ray L, Jones VP (2016) Gut content analysis of arthropod predators of codling moth in Washington apple orchards. Biol Control 102:85–92. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.05.014

Vincent C, Isaacs R, Bostanian NJ, Lasnier J (2012) Principles of arthropod pest management in vineyards. In: Bostanian NJ, Vincent C, Isaacs R (eds) Arthropod management in vineyards: pests, approaches and future directions. Springer, Dordrecht, pp 1–15. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4032-7_1

Vogelweith F, Thiéry D, Quaglietti B, Moret Y, Moreau J (2011) Host plant variation plastically impacts different traits of the immune system of a phytophagous insect. Funct Ecol 25:1241–1247. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01911

Vogelweith F, Dourneau M, Thiéry D, Moret Y, Moreau J (2013) Geographical variation in parasitism shapes larval immune function in a phytophageous insect. Naturwissenschaften 100:1149–1161. https://doi.org/10.1007/s00114-013-1119-1

Vogelweith F, Thiéry D, Moret Y, Colin E, Motreuil S, Moreau J (2014) Defense strategies used by two sympatric vineyard moth pests. J Insect Physiol 64:54–61. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.03.009

Vogelweith F, Moreau J, Thiéry D, Moret Y (2015) Food-mediated modulation of immunity in a phytophagous insect: an effect of nutrition rather than parasitic contamination. J Insect Physiol 77:55–61. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2015.04.003

Vogelweith F, Moret Y, Monceau K, Thiéry D, Moreau J (2016) The relative abundance of hemocyte types in a polyphagous moth larva depends on diet. J Insect Physiol 88:33–39. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.02.010

Walter GH (2005) Insect pest management and ecological research. Cambridge University Press, Cambridge

Walton VM, Daane K, Addison P (2012) Biological control of arthropods and its application in vineyards. In: Bostanian NJ, Vincent C, Isaacs R (eds) Arthropod management in vineyards: pests, approaches and future directions. Springer, Dordrecht, pp 91–117. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4032-7_5

Way MJ, Van Emden HF (2000) Integrated pest management in practice-pathways towards successful application. Crop Prot 19:81–103

Wirta HK, Hebert PDN, Kaartinen R, Prosser SW, Várkonyi G, Roslin T (2014) Complementary molecular information changes our perception of food web structure. Proc Nat Acad Sci 111:1885–1890

Xuéreb A, Thiéry D (2006) Does natural larval parasitism of *Lobesia botrana* vary between years, generation, density of the host and vine cultivar ? Bull Entomol Res 96:105–110. https://doi.org/10.1079/BER2005393

Zuo W, Moses ME, West GB, Hou C, Brown JH (2012) A general model for effects of temperature on ectotherm ontogenetic growth and development. Proc R Soc B 79:1840–1846. https://doi.org/10.1098/rspb.2011.2000

MANUSCRIT 7

The curse of being single: both male and female Gammarus pulex *benefit energetically from precopulatory mate guarding*

Corentin Iltis[a], François-Xavier Dechaume-Moncharmont[a], Matthias Galipaud[b], Jérôme Moreau[a], Loïc Bollache[c], and Philippe Louâpre[a]

[a] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[b] *UMR CNRS 6249 Chrono-environnement, Université Bourgogne Franche-Comté, 16 Route de Gray, 25000 Besançon, France*

[c] *Department of Evolutionary Biology, Bielefeld University, Bielefeld, Germany.*

Publié dans *Animal Behaviour* (2017)

doi : 10.1016/j.anbehav.2017.06.013

Animal Behaviour 130 (2017) 67–72

Contents lists available at ScienceDirect

Animal Behaviour

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anbehav

The curse of being single: both male and female *Gammarus pulex* benefit energetically from precopulatory mate guarding

Corentin Iltis [a, *], François-Xavier Dechaume-Moncharmont [a], Matthias Galipaud [c], Jérôme Moreau [a], Loïc Bollache [b], Philippe Louâpre [a]

[a] UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
[b] UMR 6249 Chrono-environnement, Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
[c] Department of Evolutionary Biology, Bielefeld University, Bielefeld, Germany

ARTICLE INFO

Article history:
Received 6 February 2017
Initial acceptance 24 March 2017
Final acceptance 22 May 2017
Available online 7 July 2017
MS. number: 17-00145R

Keywords:
amplexus
energy reserves
gammarids
mutual benefits
precopulatory mate guarding
sexual conflict

Precopulatory mate guarding (PCMG) is frequently presented as a classic case of sexual conflict between partners. For instance, long-lasting PCMG is regarded as an adaptive male strategy to secure a female in a context of strong intrasexual competition, while females guarded for a long time are assumed to bear many costs. This assumption has been derived from guarding systems where females obviously resist males' attempts to initiate early guarding. However, females of some species such as the freshwater amphipod *Gammarus pulex* do not seem to possess adaptations to reduce PCMG duration, which remains to be explained from an evolutionary perspective. In this model organism for sexual conflict research, a male grasps a female several days before her sexual receptivity. Here we tested the hypothesis that *G. pulex* females might benefit from being passively transported by their partner during PCMG, whereas the male alone bears the costs of swimming while carrying his mate. We therefore compared the energetic states of paired and single individuals and found that, after 5 days of PCMG in controlled conditions, paired individuals contained more protein, lipid and glycogen reserves than single individuals in both sexes. Our results suggest that PCMG might be energetically beneficial not only to the female, but also to the male. We discuss overall fitness consequences of PCMG for both partners given the mutual benefits we highlighted here. We plead for a more precise estimation of the cost/benefit ratio for each sex to improve our understanding of how sexual conflict shapes guarding patterns.
© 2017 The Association for the Study of Animal Behaviour. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

In arthropods as well as vertebrates, reproduction may involve precopulatory mate guarding (PCMG, also called amplexus or precopula), during which a male monopolizes a female until copulation (Bowcock, Brown, & Shine, 2009; Jormalainen, 1998). PCMG is particularly widespread when the number of sexually active males exceeds the number of females available for reproduction (Parker, 1974). In many species (especially among crustacean taxa such as amphipods and isopods), the male-biased operational sex ratio results from the short period of sexual receptivity of females, which typically lasts a few hours after their reproductive moult (Jormalainen, 1998; Parker, 1974). Consequently, receptive females are rare at any time, whereas almost all mature males are sexually active.

The evolutionarily stable strategy in response to such male–male competition is to precociously pair with a female long before her sexual receptivity (Grafen & Ridley, 1983; Jormalainen & Merilaita, 1993; Jormalainen, 1998). In that context, PCMG is defined as the time a male is willing to spend guarding a female before copulation instead of searching for another one (Yamamura & Jormalainen, 1996). It was theoretically shown that a male able to rely on slightly longer PCMG than his competitors will access a larger number of unguarded females, hence improving his chance to secure reproduction (Grafen & Ridley, 1983). Males are thus expected to irreversibly increase PCMG duration (Jormalainen, 1998; Jormalainen, Tuomi, & Yamamura, 1994; Yamamura & Jormalainen, 1996). However, the male optimal guarding duration is also constrained by associated costs, such as loss of other opportunities of reproduction (Parker, 1974) or decreased food intakes (Robinson & Doyle, 1985). Guarded females are, on the other hand, expected to receive no benefits and rather only incur costs from such a male-competitive strategy. Several studies have put forward higher energetic expenditure as a prominent cost for guarded

* Correspondence: C. Iltis, Equipe Ecologie Evolutive, UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.
E-mail address: Corentin.Iltis@u-bourgogne.fr (C. Iltis).

http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2017.06.013
0003-3472/© 2017 The Association for the Study of Animal Behaviour. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

females, for instance due to the transport of a passive male during PCMG in the water strider *Aquarius remigis* (Watson, Stallmann, & Arnqvist, 1998). Additionally, energetic depletion could result from reduced food intake documented for females and hermaphrodites engaged with a male in PCMG (Benvenuto & Weeks, 2012; Bowcock et al., 2009). Other costs endured by guarded females include increased vulnerability to some predators, as shown in the amphipod *Hyalella* sp. (Cothran, 2004) or reduced locomotor efficiency, as shown in the cane toad, *Bufo marinus* (Bowcock et al., 2009). These costs increase proportionally with the guarding duration. Optimal guarding duration is thus predicted to be shorter in females than in males (Jormalainen, 1998; Jormalainen et al., 1994; Yamamura & Jormalainen, 1996).

Because of this asymmetry between partners in the costs and benefits associated with PCMG, the duration of PCMG is now widely accepted to result from the conflicting interests of both partners. In other words, it can be considered as an example of intersexual conflict (Jormalainen, Merilaita, & Härdling, 2000; Plaistow, Bollache, & Cézilly, 2003; Yamamura & Jormalainen, 1996). This contrasts with early approaches considering PCMG as a purely male decision-making problem (Parker, 1974). Progress in the conceptual framework dealing with the evolution of PCMG can be achieved with additional information concerning females' gains resulting from this reproductive behaviour. A precise evaluation of the relative costs and benefits of PCMG for both partners is therefore needed to estimate more accurately the intensity of sexual conflict and how it acts as a selective pressure shaping the evolution of mate-guarding strategies (Chapman, Arnqvist, Bangham, & Rowe, 2003; Cothran, Chapman, Stiff, & Relyea, 2012; Karlsson Green & Madjidian, 2011). Recently, there has been mounting evidence that females' gains associated with PCMG could be more common than initially supposed. For instance, females experiencing long-lasting PCMG show reduced predation risks in the wild cricket *Gryllus campestris* (Rodríguez-Muñoz, Bretman, & Tregenza, 2011), but also increased reproductive rates in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (Galipaud, Dechaume-Moncharmont, Oughadou, & Bollache, 2011). As these latter authors argued, assessments of the effect of PCMG on the energetic budget should help researchers to understand more deeply the fitness consequences for both partners, especially for the female's reproductive output.

Gammarus pulex is a model organism for the study of sexual conflict (Galipaud et al., 2011; Plaistow et al., 2003). In this freshwater amphipod, males start initiating guarding when females are undergoing vitellogenesis (e.g. egg biosynthesis). Females can be inseminated within the 12 h following their reproductive moult, after which eggs are moved to a ventral brood pouch where they are fertilized and incubated until hatching (Jormalainen, 1998; Sutcliffe, 1992). For three main reasons, this species is a good candidate to put forward the link between benefits for guarded females, intensity of sexual conflict and the evolution of the related mating strategies. First, PCMG duration is much longer in *G. pulex* than in most other related taxa exhibiting PCMG (Jormalainen, 1998). In laboratory conditions, *G. pulex* amplexus last 217 h at 10 °C (up to 600 h at 1 °C). This remains relatively longer than closely related isopod species (*Idotea baltica*: 34–46 h; *Asellus aquaticus*: 104 h; *Lirceus fontinalis*: a few days) and amphipod species (*Gammarus zaddachi*: 100 h; *Gammarus lawrencianus*: 91 h; *Hyalella azteca:* 26–115 h; Jormalainen, 1998). From field observations, Birkhead and Clarkson (1980) reported that PCMG in *G. pulex* could even last up to 20 days, which remains to be explained from an evolutionary perspective. Second, *Gammarus* females lack the behavioural adaptations (female resistance behaviour in response to male pairing attempts) observed in other crustacean taxa to shorten PCMG duration, which seems to contradict the classic evolutionary outcomes of a sexual conflict (Birkhead & Clarkson, 1980; Jormalainen & Merilaita, 1995; Yamamura & Jormalainen, 1996). Third, paired females of this species are passive and transported by the male during PCMG. Indeed, it has been shown that the swimming performance of the pair is positively related to the size of the male relative to the size of the female. This implies that only the male contributes to the locomotion effort of the pair, the female being just a load when the pair swims (Adams & Greenwood, 1983). We therefore hypothesized a sex-specific energetic cost arising from the pair locomotion in *G. pulex*: the female should suffer lower energetic losses than the male. The female could even benefit from being carried during PCMG through energetic savings. Surprisingly, only one study has examined the energetic consequences of PCMG in this species, and focused only on males, revealing absolute energetic losses for those that were guarding, attributed to pair formation (Plaistow et al., 2003). However, this study did not compare the energetic reserves of single and paired individuals. Such a comparison is now needed to explore more deeply the energetic consequences of PCMG in this species.

Here, we investigated the impact of PCMG on the energetic states of both sexes in *G. pulex* by comparing single and paired individuals. Owing to their passive transport by males, we expected guarded females to save energy compared to single females. This should translate into higher lipid and protein contents, as these metabolites are stored during vitellogenesis, the crucial stage of egg production (Sutcliffe, 1992). On the other hand, paired males actively transporting their partners are thought to bear alone the energetic costs of the pair's locomotion, affecting glycogen and soluble carbohydrates, which are known to fuel short-term activities such as locomotion (Plaistow et al., 2003).

METHODS

Ethical Note

This work followed the ASAB/ABS guidelines for the treatment of animals in behavioural research. Information about individuals' origin, collection, housing conditions and killing are described below. Transport between sampling site and laboratory, as well as daily monitoring of experimental units, were devised to reduce stress and maximize animals' welfare.

Biochemical Assays

Precopula pairs of *G. pulex* were collected on May 2016 in the River Suzon (Burgundy, France). As energy reserves of females may vary with their reproductive status, we visually selected only pairs whose females were undergoing vitellogenesis, with black dorsolateral ovaries (Sutcliffe, 1992). Each pair was gently split and the resulting single individuals were randomly placed under controlled conditions (14 °C, 12:12 h light:dark cycle), either alone (40 males or 40 females) or with their former partner (240 pairs) in glass crystallizers (diameter = 6 cm, height = 4.5 cm) filled with 70 ml of water coming from the sampling site. No food was provided to avoid the potential compensation of PCMG costs through energy intakes. The pairing status of each individual was monitored four times a day for 5 days. This duration was determined by preliminary experiments: it was sufficiently long to observe an effect of the pairing status on energy budgets of both sexes, but sufficiently short to limit the risk of missing data due to pairs splitting after copulation. Individuals that did not pair within the first 30 min of the experiments ($N = 44$) or that split before the end of the 5 days ($N = 135$) were excluded from molecular analyses. We also excluded individuals that moulted ($N = 46$ pairs and one single

female), as ecdysis strongly influences the body reserves in gammarids (Charron et al., 2014). At the end of the 5 days, 61 pairs, 39 isolated females and 40 isolated males were used for energetic assessments. Each individual was blotted dry, frozen at −80 °C and weighed (±0.1 mg) with a microbalance Sartorius Quintix 35-1S before biochemical assays of four metabolites potentially involved in energy production: proteins, lipids, glycogen and soluble carbohydrates. The total amount of available soluble proteins was estimated using a DC Protein Assay kit (Bio-Rad, Hercules, CA, U.S.A.), and the other measurements (lipids, glycogen and soluble carbohydrates) were based on the colorimetric technique described by Foray et al. (2012). We ran two replicates per individual to assess organic compounds and we excluded individuals for which the coefficient of variation exceeded 25%. The repeatability of these measurements was high, since we retained 87% of the individuals in the protein data set, 96% in the lipid data set, 99% in the glycogen data set and 97% in the soluble carbohydrate data set. All the chemical measurements were expressed in mass per unit of individual mass (μg/g).

Activity Scores and Body Size Measurements

The difference in energetic states between paired and unpaired individuals may result from differences in locomotor activity. Following the method of Bollache, Kaldonski, Troussard, Lagrue, and Rigaud (2006), we thus compared the activity scores of 37 pairs and 63 single individuals (25 males and 38 females) collected in the same sampling site as described above but assigned to a different experimental group. Four times a day, we randomly selected pairs and single males and females on day 0 to day 5 after collection. We then gently put a glass cylinder (diameter = 3.5 cm) in the middle of the crystallizer to confine their movement to the boundary of the crystallizer. A diameter line had been previously drawn below the crystallizer. After 5 min of acclimation, we estimated the activity score of the individual or the pair as the number of times the gammarids crossed the diameter line during a 5 min observation period. To control for a size effect on this activity score, we estimated body size of each individual as the length of the fourth coxal plate (Bollache, Gambade, & Cézilly, 2000) using a stereoscopic microscope Nikon SMZ-10A and a video analysis system VT0 232 from Linkam Scientific Instruments Ltd (Tadworth, Surrey, U.K.).

Statistical Analyses

We first compared the body size and the percentage of moulted individuals in the two groups (pairs and single gammarids) to test whether, by chance, certain kinds of individuals had been selected. We then carried out two-way analysis of variance (ANOVA) to assess the effects of sex, pairing status and their interaction on the weight-corrected contents of proteins, lipids and glycogen, which were normally distributed. As it was skewed towards low values, the soluble carbohydrate content, *c*, did not follow a normal distribution. We modelled it using a generalized linear model (GLM) with beta distribution, with classical transformation $c' = ((n-1)P + 0.5)/c$, with n being the sample size and P the ratio between the value of the corrected carbohydrate content and the highest value of this content observed in our data set (Smithson & Verkuilen, 2006). This transformation complied with the beta regression assumption, stating that the data are within the interval]0; 1[. Cohen's d with its bootstrapped 95% confidence interval ($CI_{95\%}$, 10 000 iterations) is reported as the measure of effect size (Nakagawa & Cuthill, 2007). As discrete count data, the activity score was analysed using a GLM with negative binomial distribution to compare the locomotor activities of paired and single individuals, with the individual's body size as a covariate. Reported values are means and their bootstrapped 95% CI (10 000 iterations). All the statistical analyses were performed in R version 3.3.2 (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, http://www.r-project.org). For all tests, we chose an alpha threshold of 0.05.

RESULTS

Biochemical Assays

Our selection process led to a significant difference in body mass between paired and single males (t test: $t_{99} = -2.62$, $P = 0.01$), but not between paired and single females ($t_{98} = -1.58$, $P = 0.12$). Cohen's d remained in accordance with these statistical conclusions (males: Cohen's $d = 0.51$, $CI_{95\%} = [0.13;\ 0.94]$; females: Cohen's $d = 0.34$, $CI_{95\%} = [-0.08;\ 0.78]$). Single males were bigger than paired ones: they had mean body masses of 44.1 mg ($CI_{95\%} = [41.9;\ 46.3]$, $N = 40$) and 39.7 ($CI_{95\%} = [37.4;\ 42.0]$, $N = 61$), respectively. Single and paired females had mean body masses of 19.5 mg ($CI_{95\%} = [18.0;\ 21.0]$, $N = 39$) and 18.0 mg ($CI_{95\%} = [16.9;\ 19.0]$, $N = 61$), respectively. We also found differences in the percentage of moulted individuals in the two groups (chi-square test: $X^2_1 = 13.97$, $P < 0.001$). The percentage of individuals removed due to moult was significantly higher in the paired group (19.2%) than in the single one (1.2%).

Almost all metabolite contents were significantly influenced by pairing status in the same way: paired individuals of both sexes had generally higher reserves than single ones (Fig. 1, Table 1). This difference was significant for proteins in males (ANOVA: $F_{1,87} = 28.55$, $P < 0.001$, Cohen's $d = 1.16$, $CI_{95\%} = [0.72;\ 1.69]$) and in females ($F_{1,83} = 4.76$, $P = 0.032$, Cohen's $d = 0.51$, $CI_{95\%} = [0.04;\ 1.06]$), for lipids in males ($F_{1,94} = 63.78$, $P < 0.001$, Cohen's $d = 1.68$, $CI_{95\%} = [1.31;\ 2.18]$) and in females ($F_{1,94} = 50.25$, $P < 0.001$, Cohen's $d = 1.50$, $CI_{95\%} = [1.16;\ 1.96]$), and for glycogen in females ($F_{1,98} = 4.07$, $P = 0.046$, Cohen's $d = 0.42$, $CI_{95\%} = [0.09;\ 0.75]$). We observed a similar value of the effect size for glycogen in males, although the difference was nonsignificant: paired males tended to possess more glycogen reserves than single ones ($F_{1,98} = 2.41$, $P = 0.12$, Cohen's $d = 0.32$, $CI_{95\%} = [-0.10;\ 0.82]$). For none of these metabolites was the interaction term between sex and pairing status statistically significant (Table 1). For soluble carbohydrates, there was no significant effect of sex (beta regression: $X^2_1 = 2.60$, $P = 0.11$), pairing status ($X^2_1 = 3.17$, $P = 0.075$) and their interaction ($X^2_1 = 0.37$, $P = 0.54$; Fig. 1).

Activity Scores

Activity score did not differ significantly according to body size (GLM: $X^2_1 = 3.37$, $P = 0.07$), pairing status ($X^2_1 = 1.68$, $P = 0.20$) and sex for single individuals ($X^2_1 = 0.56$, $P = 0.45$). This implies that pairs, single males and single females moved equally. Males had a mean activity of 15.7 lines crossed per 5 min ($CI_{95\%} = [10.4;\ 21.6]$, $N = 25$), females had a mean activity of 18.9 lines ($CI_{95\%} = [14.7;\ 23.2]$, $N = 38$) and pairs had a mean activity of 13.2 lines ($CI_{95\%} = [9.5;\ 17.4]$, $N = 37$).

DISCUSSION

This study aimed at investigating the energetic consequences of PCMG for both partners in the freshwater amphipod *G. pulex*. Our initial prediction was that the active transport of the female by the male is energetically beneficial to the female and detrimental to the male. Contrary to these expectations, we found that both sexual partners had significantly higher body reserves when paired than when single. In addition, the effect sizes of this difference in

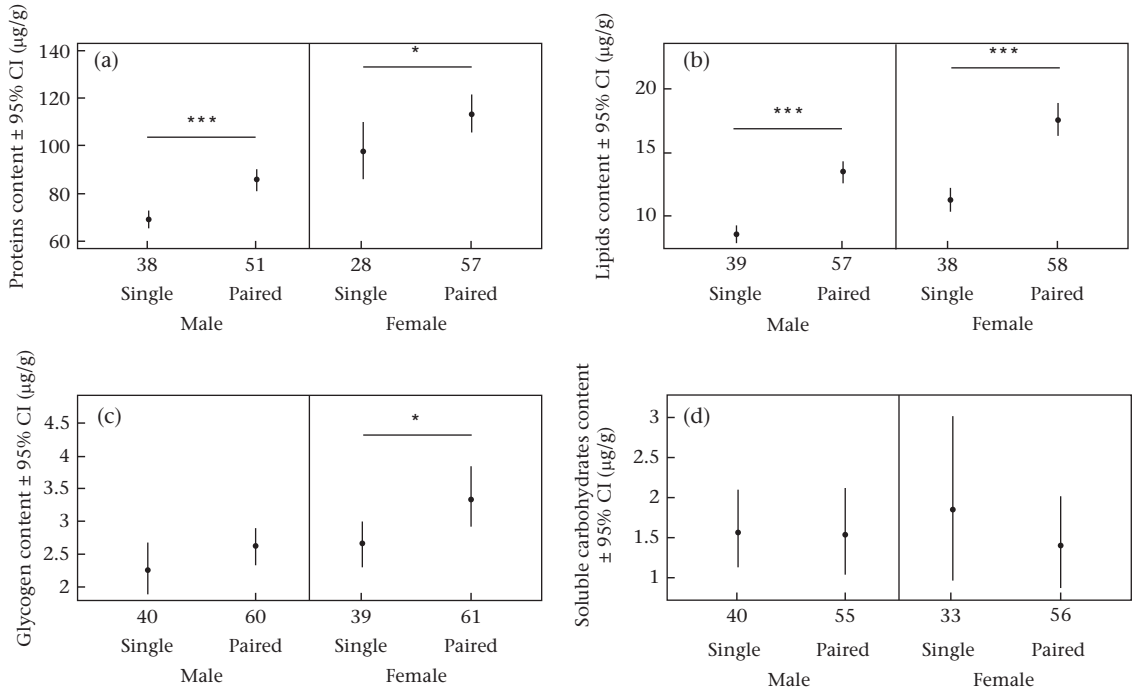


Figure 1. Effect of the pairing status (single/paired) on the weight-corrected body contents of four metabolites for both sexes, after 5 days in laboratory conditions. (a) Proteins, (b) lipids, (c) glycogen and (d) soluble carbohydrates. Dots represent mean body content values, and the associated bars represent bootstrapped 95% confidence intervals of these means. The sample sizes are reported below the *x* axis. $^{*}P < 0.05$; $^{***}P < 0.001$.

Table 1
Results of the ANOVAs testing the effect of sex, pairing status (single/paired) and sex∗status interaction on the weight-corrected contents of the three metabolites that were normally distributed

	df	*F*	*P*
Proteins			
Sex	1, 171	56.33	<0.001
Status	1, 171	18.46	<0.001
Interaction	1, 170	0.019	0.890
Lipids			
Sex	1, 189	44.75	<0.001
Status	1, 189	106.8	<0.001
Interaction	1, 188	1.85	0.175
Glycogen			
Sex	1, 198	8.63	0.004
Status	1, 198	6.49	0.012
Interaction	1, 197	0.53	0.466

reserves according to the pairing status did not differ significantly between males and females.

We first tested whether the energetic differences we highlighted might be the by-product of the artificial selection that we performed. We found a significant difference regarding males' body mass: single males weighed more than guarding ones. Although we corrected the quantified reserves by the individual's body weight, this factor could indirectly impact energy reserves through an effect on locomotor activity. However, we found no significant relationship between body size and activity score. These differences in body mass seem therefore unlikely to be involved in the strong impact of pairing on energetic budgets we highlighted. Additionally, we found a higher percentage of moulting animals in the paired group than in the single one. As Galipaud et al. (2011) pointed out, PCMG tends to reduce the female's intermoult duration. This acceleration of the female's moulting cycle could explain why paired individuals moulted significantly more than single ones after 5 days of PCMG. Hence, we can presumably hypothesize that guarded females were closer to their reproductive moult than single ones. According to a previous study, *Gammarus* females store energetic reserves just before ecdysis (e.g. during late intermoult and premoult stages), probably in relation to the inhibition of some digestive enzymes (Charron et al., 2014). We can thus reasonably expect that single females further from their reproductive moult consumed their reserves more intensely than paired ones, which remains in accordance with our main findings.

In addition to this physiological effect, PCMG could affect energetic states of individuals through an impact on locomotion activity. Comparing our activity measurements and energetic analyses, it seems that, for a similar activity score, single males and females spent more energy than paired ones, which is not fully in line with our initial prediction. The most parsimonious explanation of these energetic differences would involve additional costs for single individuals, probably related to mate-searching activity. Our results show that these additional costs did not translate into higher activity scores during daytime. However, our metrics excluded nocturnal activity of gammarids, which has been recently documented in three species including *G. pulex* (Perkin, Hölker, Heller, & Berghahn, 2014). Locomotor activity of single individuals could increase at night because of mate-searching costs. This activity pattern could decrease the predation risk, as single gammarids actively seeking a mate are expected to be more exposed to predators (Jormalainen et al., 1994). Interestingly, although previous theoretical work made the assumption that mate-searching costs were mainly paid by males (Jormalainen, 1998; Jormalainen et al., 1994), we found no differences between the sexes in swimming activity, suggesting that females can also take part in mate sampling. As females were initially thought to remain hidden while males were actively searching for a mate, some additional information would be required to confirm our statement, for instance by measuring activity in more complex environments providing shelters.

Energetic states in natural conditions are also expected to vary according to energy intakes, which can be disrupted if paired individuals are unable to feed (Bowcock et al., 2009; Robinson & Doyle, 1985) or if food is scarce in the hiding places used by pairs (Sparkes, Keogh, & Pary, 1996). Most notably, sexual conflict might arise if PCMG impedes the foraging activity of one partner but not the other. For example, hermaphrodites of the androdioecious clam shrimp *Eulimnadia texana* close their carapace during PCMG and are therefore unable to keep filter feeding, whereas guarding males are not affected at all (Benvenuto & Weeks, 2012). This potential source of conflict was not addressed in the present study, since no food was provided during the experiments. Gammarids are frequently presented as omnivorous shredders feeding on dead plant material, carrion and living animals (Kelly, Dick, & Montgomery, 2002; MacNeil, Dick, & Elwood, 1997). Gnathopods have been recognized as key structures involved in food acquisition; hence males firmly grasping guarded females with these body parts could suffer from reduced food intakes (Robinson & Doyle, 1985). Despite this potential negative effect of PCMG on males' food absorption, field data revealed accumulation of lipids and glycogen in paired males as shown in our study (Plaistow et al., 2003). Other appendages such as antennae, antennulae and the third pair of uropods are also involved in food collection, and could enable males to keep feeding while holding on to a female (Mayer, Maas, & Waloszek, 2012). It thus seems unlikely that PCMG might severely hinder the feeding rate of one sex in this species, as it does not immobilize these body parts. Therefore, the dynamics of the intense depletion and accumulation of reserves we highlighted for single individuals and pairs, respectively, probably reflects those found in nature.

The most relevant energetic expenses for single individuals mainly involved lipids and proteins, which are crucial precursors of egg biosynthesis (Sutcliffe, 1992). Hence, it appears that PCMG could avoid such energetic losses and increase the female's reproductive output. This is in accordance with the conclusions drawn by Galipaud et al. (2011) who reported higher reproductive rates for long-guarded *G. pulex* females. On the other hand, paired males saving lipids and proteins are likely to take advantage of these reserves for their future episode of growth following PCMG. Body size is indeed strongly related to male competitive abilities in male–male competition over female access in *G. pulex*: larger males are able to guard larger females (Elwood & Dick, 1990). As the female's fecundity increases with increasing body size, larger males are consequently likely to fertilize more eggs (Elwood & Dick, 1990; Elwood, Gibson, & Neil, 1987; Grafen & Ridley, 1983). An experiment comparing growth rates of paired and single males would, however, be welcome to test such a hypothesis of differential resources allocation with pairing status.

To our knowledge, this study is one of the few to assess simultaneously the fitness consequences of PCMG for both partners (see Jormalainen, Merilaita, & Riihimäki, 2001 for another example). Such a holistic view of the cost/benefit ratios related to PCMG for both partners should become more systematic, since it may greatly improve our understanding of the intensity of sexual conflict shaping guarding patterns. Indeed, sexual conflict is assumed to stem from asymmetry between the sexes in the costs and benefits of sexual interactions, in the present case PCMG duration (Chapman et al., 2003). The similar energetic savings we found for paired males and females indicates, from an energetic point of view, a reduced asymmetry in these costs and benefits, and, consequently, that sexual conflict over PCMG duration is limited. This could explain the absence of female adaptive behaviour aiming to avoid long-lasting PCMG. In the marine isopod *I. baltica*, females pay important costs of immobilization; hence their cost/benefit ratio associated with PCMG strongly tends towards losses compared with males. It is thus in their interest to shorten PCMG duration, which could explain why they vehemently resist males' attempts to initiate guarding (Jormalainen et al., 2001). Such behavioural or morphological adaptations have been frequently observed in species where females suffer considerable costs as a consequence of guarding interactions (Arnqvist & Rowe, 1995; Jormalainen & Merilaita, 1995, 1993). Female resistance to early guarding attempts could reveal strong sexual conflict over PCMG duration. Such resistance behaviour has rarely been observed in gammarid species, however (Jormalainen & Merilaita, 1995). Most notably, *G. pulex* females appear to be particularly passive during PCMG which lasts much longer (up to 20 days) than in *I. baltica* (6 days; Birkhead & Clarkson, 1980; Jormalainen et al., 2001). Additionally, *G. pulex* females have large pores at the surface of their cuticle, presumably involved in a lock-on mechanism facilitating the clasp of the male on their back during amplexus (Platvoet, Song, Li, & van der Velde, 2006). Such behavioural and morphological cues indicate there is probably little sexual conflict over guarding duration in *G. pulex*, which is supported by the present results.

From the male's point of view, imposing higher energetic expenditures on the female would have a detrimental effect on her egg production, which would, in turn, be prejudicial for his own fitness (Jormalainen et al., 1994). This is especially true when males have only a few reproductive opportunities in their life. In *G. pulex*, males guard females for a long time before copulation, thereby forgoing other reproductive opportunities. The lifetime reproductive success of a male greatly depends on the egg production of each of the relatively few females he manages to guard. In other words, in species where male–male competition leads to long-lasting PCMGs, we should expect these PCMGs to have limited or no detrimental effect on female energetic resources. According to our results, PCMG even seems beneficial to females in terms of energy budgets. If, overall, long-lasting PCMG increases females' lifetime fitness, it could be considered as mutually beneficial for both partners (West, Griffin, & Gardner, 2007). That long-lasting PCMGs are mutually beneficial does not necessarily imply that they evolve in males because it benefits females, in which case PCMG would be considered as a cooperative behaviour (West et al., 2007). Instead, it more probably implies that the optimal guarding durations differ only weakly between the sexes, leading to decreased resistance of females to mating attempts and possibly facilitation of pairing.

Conclusion

From an energy point of view, it seems that both sexual partners mutually benefit from PCMG, a surprising result under the prevalent hypothesis of a sexual conflict over PCMG duration in amphipods (Jormalainen et al., 1994; Yamamura & Jormalainen, 1996). We here aimed at highlighting the need for simultaneous assessments of cost/benefit ratios associated with male sexually selected traits for both partners. No apparent sign of sexual conflict has been found in *G. pulex,* and our study brings new information about the energetic benefits of guarding for both partners. As Trivers (1972) pointed out, the interests of males and females are rarely identical and sexual conflict is probably ubiquitous. Its intensity may, however, vary greatly among species and especially ecological contexts (Arbuthnott, Dutton, Agrawal, & Rundle, 2014; Tregenza, Wedell, & Chapman, 2006). In the case of PCMG, the costs and benefits for females proved to be reliable indicators of that intensity, as well as the differences in the cost/benefit ratio between the sexes. Similar to what we observed here from an energetic perspective, when PCMG is beneficial for females, the partners' interests may converge over its duration, hence limiting the intensity of sexual conflict. To understand the evolution of PCMG and

the variation in its duration among species (e.g. Jormalainen, 1998), we plead for further investigations regarding the costs and benefits of PCMG for both sexes, particularly those linked to predation risks (Cothran, 2004; Cothran et al., 2012), foraging efficiency (Bowcock et al., 2009; Robinson & Doyle, 1985), interference with other conspecifics such as harassment by males (Amano & Hayashi, 1998) or loss of mating opportunities (Jormalainen, 1998).

Acknowledgments

We thank the Editor, C. Benvenuto, V. Jormalainen and an anonymous referee who greatly improved the manuscript with their relevant suggestions. We are also grateful to S. Motreuil for his technical support, R. Quinaux for his help during energetic assays, C. Laubu and C. Jéhan for their helpful comments on the manuscript. This work was supported by the Conseil Régional de Bourgone Franche-Comté and the UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement.

References

Adams, J., & Greenwood, P. J. (1983). Why are males bigger than females in precopula pairs of *Gammarus pulex? Behavioral Ecology and Sociobiology, 13*(4), 239–241. http://dx.doi.org/10.1007/BF00299670.

Amano, H., & Hayashi, K. (1998). Costs and benefits for water strider (*Aquarius paludum*) females of carrying guarding, reproductive males. *Ecological Research, 13*(3), 263–272. http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1703.1998.00270.x.

Arbuthnott, D., Dutton, E. M., Agrawal, A. F., & Rundle, H. D. (2014). The ecology of sexual conflict: Ecologically dependent parallel evolution of male harm and female resistance in *Drosophila melanogaster. Ecology Letters, 17*(2), 221–228. http://dx.doi.org/10.1111/ele.12222.

Arnqvist, G., & Rowe, L. (1995). Sexual conflict and arms races between the sexes: A morphological adaptation for control of mating in a female insect. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 261*(1360), 123–127. http://dx.doi.org/10.1098/rspb.1995.0126.

Benvenuto, C., & Weeks, S. C. (2012). Intersexual conflict during mate guarding in an androdioecious crustacean. *Behavioral Ecology, 23*(1), 218–224. http://dx.doi.org/10.1093/beheco/arr178.

Birkhead, T. R., & Clarkson, K. (1980). Mate selection and precopulatory guarding in *Gammarus pulex*. *Zeitschrift Für Tierpsychologie, 52*(4), 365–380. http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0310.1980.tb00724.x.

Bollache, L., Gambade, G., & Cézilly, F. (2000). The influence of micro-habitat segregation on size assortative pairing in *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea, Amphipoda). *Archiv Für Hydrobiologie, 147*(4), 547–558. http://dx.doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/147/2000/547.

Bollache, L., Kaldonski, N., Troussard, J.-P., Lagrue, C., & Rigaud, T. (2006). Spines and behaviour as defences against fish predators in an invasive freshwater amphipod. *Animal Behaviour, 72*(3), 627–633. http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2005.11.020.

Bowcock, H., Brown, G., & Shine, R. (2009). Beastly bondage: The costs of amplexus in cane toads (*Bufo marinus*). *Copeia, 2009*(1), 29–36. http://dx.doi.org/10.1643/CE-08-036.

Chapman, T., Arnqvist, G., Bangham, J., & Rowe, L. (2003). Sexual conflict. *Trends in Ecology & Evolution, 18*(1), 41–47. http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(02)00004-6.

Charron, L., Geffard, O., Chaumot, A., Coulaud, R., Jaffal, A., Gaillet, V., et al. (2014). Influence of molting and starvation on digestive enzyme activities and energy storage in *Gammarus fossarum*. *PLoS One, 9*(4), e96393. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0096393.

Cothran, R. D. (2004). Precopulatory mate guarding affects predation risk in two freshwater amphipod species. *Animal Behaviour, 68*(5), 1133–1138. http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2003.09.021.

Cothran, R. D., Chapman, K., Stiff, A. R., & Relyea, R. A. (2012). "Cryptic" direct benefits of mate choice: Choosy females experience reduced predation risk while in precopula. *Behavioral Ecology and Sociobiology, 66*(6), 905–913. http://dx.doi.org/10.1007/s00265-012-1339-y.

Elwood, R. W., & Dick, J. T. A. (1990). The amorous *Gammarus*: The relationship between precopula duration and size-assortative mating in *G. pulex*. *Animal Behaviour, 39*(5), 828–833. http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80946-7.

Elwood, R. W., Gibson, J., & Neil, S. (1987). The amorous *Gammarus*: Size assortative mating in *G. pulex*. *Animal Behaviour, 35*(1), 1–6. http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(87)80203-8.

Foray, V., Pelisson, P.-F., Bel-Venner, M.-C., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., et al. (2012). A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: The van Handel's method (1985) revisited. *Physiological Entomology, 37*(3), 295–302. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3032.2012.00831.x.

Galipaud, M., Dechaume-Moncharmont, F.-X., Oughadou, A., & Bollache, L. (2011). Does foreplay matter? *Gammarus pulex* females may benefit from long-lasting precopulatory mate guarding. *Biology Letters, 7*(3), 333–335. http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2010.0924.

Grafen, A., & Ridley, M. (1983). A model of mate guarding. *Journal of Theoretical Biology, 102*(4), 549–567. http://dx.doi.org/10.1016/0022-5193(83)90390-9.

Jormalainen, V. (1998). Precopulatory mate guarding in crustaceans: Male competitive strategy and intersexual conflict. *Quarterly Review of Biology, 73*(3), 275–304. http://dx.doi.org/10.1086/420306.

Jormalainen, V., & Merilaita, S. (1993). Female resistance and precopulatory guarding in the isopod *Idotea Baltica* (Pallas). *Behaviour, 125*(3), 219–231. http://dx.doi.org/10.1163/156853993X00254.

Jormalainen, V., & Merilaita, S. (1995). Female resistance and duration of mate-guarding in three aquatic peracarids (Crustacea). *Behavioral Ecology and Sociobiology, 36*(1), 43–48. http://dx.doi.org/10.1007/BF00175727.

Jormalainen, V., Merilaita, S., & Härdling, R. (2000). Dynamics of intersexual conflict over precopulatory mate guarding in two populations of the isopod *Idotea baltica*. *Animal Behaviour, 60*(1), 85–93. http://dx.doi.org/10.1006/anbe.2000.1429.

Jormalainen, V., Merilaita, S., & Riihimäki, J. (2001). Costs of intersexual conflict in the isopod *Idotea baltica*. *Journal of Evolutionary Biology, 14*(5), 763–772. http://dx.doi.org/10.1046/j.1420-9101.2001.00325.x.

Jormalainen, V., Tuomi, J., & Yamamura, N. (1994). Intersexual conflict over precopula duration in mate guarding crustacea. *Behavioural Processes, 32*(3), 265–283. http://dx.doi.org/10.1016/0376-6357(94)90047-7.

Karlsson Green, K., & Madjidian, J. A. (2011). Active males, reactive females: Stereotypic sex roles in sexual conflict research? *Animal Behaviour, 81*(5), 901–907. http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.01.033.

Kelly, D. W., Dick, J. T. A., & Montgomery, W. I. (2002). The functional role of *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): Shredders, predators, or both? *Hydrobiologia, 485*(1), 199–203. http://dx.doi.org/10.1023/A:1021370405349.

MacNeil, C., Dick, J. T. A., & Elwood, R. W. (1997). The trophic ecology of freshwater *Gammarus* spp. (Crustacea: Amphipoda): Problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. *Biological Reviews, 72*(3), 349–364. http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-185X.1997.tb00017.x.

Mayer, G., Maas, A., & Waloszek, D. (2012). Mouthpart morphology of three sympatric native and nonnative gammaridean species: *Gammarus pulex*, *G. fossarum*, and *Echinogammarus berilloni* (Crustacea: Amphipoda). *International Journal of Zoology, 2012*, 1–23. http://dx.doi.org/10.1155/2012/493420.

Nakagawa, S., & Cuthill, I. C. (2007). Effect size, confidence interval and statistical significance: A practical guide for biologists. *Biological Reviews, 82*(4), 591–605. http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-185X.2007.00027.x.

Parker, G. A. (1974). Courtship persistence and female-guarding as male time investment strategies. *Behaviour, 48*(1), 157–183. http://dx.doi.org/10.1163/156853974X00327.

Perkin, E. K., Hölker, F., Heller, S., & Berghahn, R. (2014). Artificial light and nocturnal activity in gammarids. *PeerJ, 2*, e279. http://dx.doi.org/10.7717/peerj.279.

Plaistow, S. J., Bollache, L., & Cézilly, F. (2003). Energetically costly precopulatory mate guarding in the amphipod *Gammarus pulex*: Causes and consequences. *Animal Behaviour, 65*(4), 683–691. http://dx.doi.org/10.1006/anbe.2003.2116.

Platvoet, D., Song, Y., Li, S., & van der Velde, G. (2006). A lock-on system in precopulae of *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), also present in *Gammarus pulex pulex* (Linnaeus, 1758) (Amphipoda). Amphipod Pilot Species Project (AMPIS) Report 2. *Crustaceana, 79*(8), 993–1003. http://dx.doi.org/10.1163/156854006778815964.

Robinson, B. W., & Doyle, R. W. (1985). Trade-off between male reproduction (amplexus) and growth in the amphipod *Gammarus lawrencianus*. *Biological Bulletin, 168*(3), 482–488. http://dx.doi.org/10.2307/1541528.

Rodríguez-Muñoz, R., Bretman, A., & Tregenza, T. (2011). Guarding males protect females from predation in a wild insect. *Current Biology, 21*(20), 1716–1719. http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2011.08.053.

Smithson, M., & Verkuilen, J. (2006). A better lemon squeezer? Maximum-likelihood regression with beta-distributed dependent variables. *Psychological Methods, 11*(1), 54–71. http://dx.doi.org/10.1037/1082-989X.11.1.54.

Sparkes, T. C., Keogh, D. P., & Pary, R. A. (1996). Energetic costs of mate guarding behavior in male stream-dwelling isopods. *Oecologia, 106*(2), 166–171. http://dx.doi.org/10.1007/BF00328595.

Sutcliffe, D. W. (1992). Reproduction in *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): Basic processes. *Freshwater Forum, 2*(2), 102–128.

Tregenza, T., Wedell, N., & Chapman, T. (2006). Introduction. Sexual conflict: A new paradigm? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 361*(1466), 229–234. http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2005.1796.

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

Watson, P. J., Stallmann, R. R., & Arnqvist, G. (1998). Sexual conflict and the energetic costs of mating and mate choice in water striders. *American Naturalist, 151*(1), 46–58. http://dx.doi.org/10.1086/286101.

West, S. A., Griffin, A. S., & Gardner, A. (2007). Social semantics: Altruism, cooperation, mutualism, strong reciprocity and group selection. *Journal of Evolutionary Biology, 20*(2), 415–432. http://dx.doi.org/10.1111/j.1420-9101.2006.01258.x.

Yamamura, N., & Jormalainen, V. (1996). Compromised strategy resolves intersexual conflict over pre-copulatory guarding duration. *Evolutionary Ecology, 10*(6), 661–680. http://dx.doi.org/10.1007/BF01237713.

MANUSCRIT 8

Parasitism may alter functional response comparisons: a case study on the killer shrimp Dikerogammarus villosus *and two non-invasive gammarids*

Corentin Iltis[a], Thierry Spataro[b], Rémi Wattier[a], and Vincent Médoc[b]

[a] *UMR CNRS 6282 Biogéosciences, Université Bourgogne Franche-Comté, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France.*

[b] *UMR CNRS 7618 Institut d'écologie et des sciences de l'environnement de Paris, 4 Place Jussieu, 75005 Paris.*

Publié dans *Biological Invasions* (2018)

doi : doi.org/10.1007/s10530-017-1563-5

Biol Invasions (2018) 20:619–632
https://doi.org/10.1007/s10530-017-1563-5

ORIGINAL PAPER

Parasitism may alter functional response comparisons: a case study on the killer shrimp *Dikerogammarus villosus* and two non-invasive gammarids

Corentin Iltis · Thierry Spataro · Rémi Wattier · Vincent Médoc

Received: 22 October 2016 / Accepted: 12 September 2017 / Published online: 19 September 2017
© Springer International Publishing AG 2017

Abstract The Ponto-Caspian freshwater amphipod *Dikerogammarus villosus* has colonized most of the water bodies of continental Europe where it causes strong structural alterations in recipient communities that can lead to changes in ecosystem-level processes, mainly because of a strong predatory behaviour. Most of the *D. villosus* populations from the invaded range have been found infected with the co-introduced microsporidian parasite *Cucumispora dikerogammari*, known to decrease the predation rate of its host. Infection might thus mitigate the ecological impact of *D. villosus* and we wanted to test this assumption using the comparative functional response approach. We compared the relationship between resource use and resource availability (i.e. the functional response, FR) of *D. villosus*, either with infected individuals or not, to that of two non-invasive gammarids: *Gammarus pulex* and *Echinogammarus berilloni*. With infected individuals included, *D. villosus* displayed a higher FR than the two non-invasive gammarids. Although this effect was not significant, *C. dikerogammari* infection tended to alter the FR of *D. villosus* with a slight decrease in attack rate and handling time, resulting in a less steep initial slope and a higher asymptote, respectively. Removing infected *D. villosus* from the dataset did not affect the FR comparison with *G. pulex* but suppressed the difference in FR with *E. berilloni*. Although we cannot exclude the role of sample size reduction in this effect, this suggests that *C. dikerogammari* infection might increase the predation pressure on local prey populations in case of species replacement between *D. villosus* and *E. berilloni*. From a more general perspective, our study illustrates how parasites may alter our capacity to predict invasive species impacts from FR comparisons.

Keywords Biological invasions · Co-introduced parasite · *Cucumispora dikerogammari* · Freshwater amphipods · Functional response · Predation

C. Iltis · T. Spataro · V. Médoc
Institute of Ecology and Environmental Sciences – Paris (UMR CNRS 7618), Paris, France

C. Iltis · R. Wattier
Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France

T. Spataro
AgroParisTech, Paris, France

R. Wattier
Laboratoire Biogéosciences (UMR CNRS-UBFC 6282), Dijon, France

V. Médoc (✉)
Université Pierre et Marie Curie, Sorbonne Universités, 4 place Jussieu, tour 44-45, office 520, case 237, 75252 Paris Cedex 05, France
e-mail: vincent.medoc@upmc.fr

Introduction

Biological invasions are a major driver of biodiversity loss. Invasive species (species introduced outside their native range that establish self-sustaining populations and spread beyond their point of introduction with deleterious impact on the recipient ecosystem, Kolar and Lodge 2001) threaten native species through direct predation (Paolucci et al. 2013), competition (Riley and Dybdahl 2015), habitat degradation (Wallentinus and Nyberg 2007), disease emergence (Tompkins et al. 2003) or through more subtle trait-mediated indirect interactions (Byers et al. 2010; Mattos and Orrock 2010).

There is growing interest in the role of parasites in biological invasions (Prenter et al. 2004; Dunn 2009; Dunn and Hatcher 2015; Médoc et al. 2017). Parasites may contribute to invasion success and mediate ecological impacts in many ways. For instance, introduced free-living species can become hosts for native parasites, leading either to an increase in prevalence in native species if they are competent hosts that amplify transmission (spillback, Kelly et al. 2009), or to a decrease in prevalence in native species if they act as sink or poor reservoir (dilution, Norman et al. 1999; Ostfeld and Keesing 2000). Invasive species may gain advantage from parasite spillback through direct or apparent competition whereas parasite dilution may benefit native species. Regarding the parasites of introduced species, although the enemy release hypothesis predicts that most of them should be lost during introduction (Keane and Crawley 2002; Torchin et al. 2003), there are many examples of co-introductions (Lymbery et al. 2014). Co-introduced parasites may down-regulate the density of their exotic host through increased mortality and/or reduced fecundity, and modulate their predation rate or competitiveness through behavioural changes. Co-introduced parasites may also become invasive when they spread among native species (spillover, Power and Mitchell 2004; Strauss et al. 2012) and act as biological weapons, facilitating invasion and amplifying impact via apparent competition.

Due to their high connectivity and the development of commercial and recreational shipping, freshwater ecosystems are highly vulnerable to biological invasions (Sala et al. 2000; Carpenter et al. 2011). Many Ponto-Caspian fish, molluscs and crustaceans are successful invaders in Europe and North America (Ojaveer et al. 2002). Among them, the amphipod *Dikerogammarus villosus* (Sowinski 1894) is regarded as one of the 100 worst invasive species in Europe according to the experts of the Delivering Alien Invasive Species in Europe (DAISIE) project (see www.europe-aliens.org). It has colonized most of the water bodies of continental Europe in less than 20 years after the opening of the Rhine-Main-Danube canal in 1992 (see Rewicz et al. 2014 and references therein for a detailed invasion history), was reported in several localities across the United Kingdom in September 2010 (MacNeil et al. 2010), and is predicted to invade the North American Great Lakes (U.S. EPA 2008). Invaded communities are often extensively restructured with the extirpation of native invertebrates (Dick and Platvoet 2000; van der Velde et al. 2000; MacNeil et al. 2013), which can lead to changes in ecosystem-level processes like leaf-litter processing (MacNeil et al. 2011; Piscart et al. 2011; Truhlar et al. 2014). The ecological impacts of *D. villosus* are often attributed to its predatory behaviour, leading it to be referred to as the "killer shrimp". Indeed, marked predation on various animal food sources (conspecifics, other amphipods, isopods, insect larvae, juvenile crayfish, fish eggs and small fish) has been reported from laboratory studies (Dick et al. 2002; Krisp and Maier 2005; MacNeil and Platvoet 2005; Casellato et al. 2007; Buřič et al. 2009) and the high trophic position of *D. villosus* has been partially confirmed in the field (Van Riel et al. 2006; Bacela-Spychalska and Van der Velde 2013, but see Hellmann et al. 2015; Koester et al. 2016).

In many populations all over Europe, *Dikerogammarus villosus* is found infected with the microsporidian parasite *Cucumispora dikerogammari*, whose prevalence can reach 72% (Wattier et al. 2007; Ovcharenko et al. 2010). This co-introduced parasite infects muscles and is transmitted mainly horizontally during the consumption of infected conspecifics (Bacela-Spychalska et al. 2012). Spillover from *D. villosus* to native amphipods has been observed in the laboratory, but is expected to be limited in the field to ecological situations of high prevalence and where *D. villosus* is not the dominant species of the assemblage. Furthermore, *D. villosus* being a high-rank predator, it is unlikely to be preyed upon by other amphipods (Bacela-Spychalska et al. 2012). Although *D. villosus* show reduced survival in the later stages of infection, infected females reproduce earlier as compensatory

response, which could reduce the population-dynamic effect of *C. dikerogammari* (Bacela-Spychalska et al. 2012). *D. villosus* at a late stage of infection (i.e. with visible signs of infection) also display reduced predation compared to healthy individuals, while those at an early stage of infection (i.e. asymptomatic individuals) show an intermediate behaviour (Bacela-Spychalska et al. 2014). Infection might thus limit the predation pressure of *D. villosus* and hence its ecological impact on lower trophic level species.

Our aim was to investigate further the effect of *C. dikerogammari* infection on the ecological impact of *D. villosus*. For this, we used the functional response (FR), namely the relationship between resource use and availability (Solomon 1949). Typically, the *per capita* consumption rate of a predator increases with prey density and the relationship can be linear (type I), decelerating with an asymptote at higher prey densities (type II), or S-shaped with acceleration first at low densities and then deceleration towards satiation (type III, Holling 1959a). The decrease of *per-capita* predation risk with prey density in type II FRs can lead to unstable boom-burst population dynamics whereas the S-shape of type III FRs offers low-density refugia for prey, which prevents such unstable dynamics (Murdoch and Oaten 1975; Juliano 2001; Gentleman and Neuheimer 2008; Kalinkat et al. 2013). Comparative FRs may provide useful insights on the ecological impact of invasive predators on local prey populations, strong impacts being expected if they display a higher (i.e. rising more steeply and/or reaching a higher asymptote) or a more destabilizing FR (i.e. type II instead of type III) than the trophically analogous natives they (may) replace (Dick et al. 2014). The FR of *D. villosus* was found to be of type II and to rise more rapidly to a higher asymptote than that of other gammarids, which corroborates its known ecological impacts (Bollache et al. 2008; Dodd et al. 2014; Bovy et al. 2015). We wanted to know whether the presence of *C. dikerogammari* may alter this difference.

We compared the FR of *D. villosus* for either healthy or for naturally *C. dikerogammari*-infected individuals to that of two non-invasive amphipods: *Gammarus pulex* and *Echinogammarus berilloni*. We also tested whether infection shaped the FR of *D. villosus*. Based on the previous FR investigations on *D. villosus* and other gammarids (Bollache et al. 2008; Dick et al. 2010; Kestrup et al. 2011; Médoc et al. 2013; Dodd et al. 2014), a type-II FR was expected for the three amphipod species with a curve rising more steeply and/or reaching a higher asymptote for uninfected *D. villosus*. In addition, following the results of Bacela-Spychalska et al. (2014), we expected a negative effect of *C. dikerogammari* infection on the *per capita* predation rate of *D. villosus*, which might shape its FR and alter the between-species difference in FR.

Materials and methods

Sampling and maintenance of the gammarids

In March–April 2015, we collected the three amphipod species from the Seine river (Seine et Marne, 48°38′N and 2°79′E), where they coexist. Infection with *C. dikerogammari* was confirmed by PCR-based detection (see Wattier et al. 2007 for further details) with a prevalence around 25% in *D. villosus*. We did not look for the presence of *C. dikerogammari* in *G. pulex* and *E. berilloni* as spillover from *D. villosus* is very unlikely at this level of prevalence and also because *D. villosus* is not the dominant gammarid species at the study site (Bacela-Spychalska et al. 2012; Grabner et al. 2015). To avoid sex effect and reduce within-species variability in body length, we selected large-sized males (approximately 17, 14 and 13 mm in total length for *D. villosus*, *G. pulex* and *E. berilloni*, respectively). For each gammarid species, we excluded macroparasite-infected individuals in which mature parasitic larvae are visible through the cuticle as macroparasites at this developmental stage can alter gammarids' FR (Dick et al. 2010). At the Foljuif field station (UMS 3194 Ens CNRS CEREEP, Seine et Marne, 48°11′N and 2°14′E), gammarids were kept separately in aerated Seine-river water at 15 °C in a 13L:11D light regime with macrophytes as shelters and conditioned alder leaves (i.e. previously soaked for five days in the Seine-river water to create a surface biofilm) as food source for 5 days before the experiments.

Functional response experiments

During the FR experiments, single gammarids were starved for 24 h to standardise hunger and presented to *Chaoborus* sp. larvae (dipteran, 11 ± 1 mm in total

length) at five densities ($N = 4, 6, 8, 12, 20$, with 24 replicates per density for *D. villosus* and 12 replicates for *G. pulex* and *E. berilloni*) in black plastic dishes (11.5 cm diameter) filled with 200 mL of aerated Seine-river water. *Chaoborus* were collected from a pond of the field station (Seine et Marne, 48°11′N and 2°14′E). We already used *Chaoborus* in previous experiments (Médoc et al. 2013, 2015), allowing comparison of results. Controls were five replicates of each prey density without gammarids. The experiments were run from 9 am to 5 pm along 18 consecutive days during which they were distributed in a quasi-systematic way to avoid time effect. During the course of the experiments, we recorded the number of killed prey and replaced them to avoid prey depletion, new *Chaoborus* being introduced gently with a small plastic pipette so as to minimize disturbance. We recorded the number of killed prey and not the amount of biomass consumed because we were interested in the effect of the predator on the dynamic of the prey population, and not the reverse. Throughout this paper, we indiscriminately use the terms "predation" and "killing" to describe the ecological impact of the gammarid species on the prey population. At the end of the experiments, gammarids were euthanized in warm water, measured for total length to the nearest millimeter and dissected to confirm the absence of macroparasites. *D. villosus* individuals were stored individually in 1.5 mL tubes filed with pure ethanol for subsequent PCR analysis to identify those infected with *C. dikerogammari*. We found an overall prevalence of 33.6%, with 40 infected *D. villosus* over the 119 individuals in which infection has been diagnosed (because of a problem during storage, infection for one of the 24 replicates made with $N = 8$ has not been diagnosed and this replicate was excluded from the analyses). The prevalence ranged from 25 to 47.8% depending of the prey density ($N = 4$: 33.3%, $N = 6$: 25%, $N = 8$: 47.8%, $N = 12$: 29.2%, $N = 20$: 33.3%). We did not look for the presence of microparasites in *G. pulex* and *E. berilloni*. As explained above, spillover of *C. dikerogammari* is very unlikely and although we cannot exclude the presence of some vertically-transmitted microsporidians in *G. pulex* and *E. berilloni,* these parasites are not expected to alter gammarids' predatory behaviour (Dunn and Smith 2001; Terry et al. 2004; Grabner et al. 2015).

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using the R software (version 3.2.0, R Development Core Team 2013) and the *pgirmess* package (version 1.6.5). As data did not meet the homoscedasticity assumption, we used a Krukal-Wallis test followed by multiple non-parametric pairwise comparison tests (*kruskalmc* function of the *pgirmess* package) to compare body length between species. A *t* test with heterogeneous variance was used to compare body length between uninfected and infected *D. villosus*. Three prey-dependent FR models (type I, II or III, Table 1) were fitted to the observed killing rates, the non-linear regressions being performed with the *nls* function. Because the residuals did not meet the normality assumption, we used a non-parametric bootstrap method to obtain confidence intervals of the parameter estimates. The candidate models were compared with the second order Akaike criterion (AIC_c). When the difference in AIC_c values between two models (ΔAIC_c) is less or equal to the value of two, then it is generally accepted that the two models perform as well (Nakaya et al. 2005). To test whether *C. dikerogammari* infection alters the between-species difference in FR, we made pairwise FR comparisons between *D. villosus* and either *G. pulex* or *E. berilloni* under two scenarios: in a first one with all *D. villosus* individuals (i.e. both infected and uninfected individuals) and then in a second one with only uninfected *D. villosus*. We also made a FR comparison between uninfected and *C. dikerogammari*-infected *D. villosus*. Because the type-II FR model was the best model for the three species (Table 1), the FR comparisons came down to a comparison of the estimates of its two parameters: the attack rate a (also called searching efficiency), and the handling time h, which is defined as the time during which the predator stops searching for prey after a capture (Holling 1959b) and therefore includes successive stages like prey handling and ingestion. We used a two-step procedure to compare two type-II FRs (between two gammarid species or between uninfected and infected *D. villosus*). In a first step, we performed a Likelihood Ratio Test (LRT) between the most complex model assuming different FR parameter values for the two curves (the 4-parameter model) and the simplest model considering the same parameter values for both curves (the 2-parameter model). If the fitting improvement provided by the

Table 1 Set of the candidate models used to investigate the functional response of the three gammarid species: *Dikerogammarus villosus*, *Gammarus pulex* and *Echinogammarus berilloni* feeding on dipteran larvae

Model	Instantaneous expression	Parameters	References
Type I	$g(N) = aN$	a	Lotka-Volterra
Type II	$g(N) = \frac{aN}{1 + ahN}$	a, h	Holling (1959a)
Type III	$g(N) = \frac{(b + cN)N}{1 + (b + cN)hN}$	b, c, h	Hassell et al. (1977)

g is the rate of prey consumption, N the prey density, a a measure of the searching efficiency, h the handling time, b and c some constants

additional parameters was significant, then we considered the two FRs as significantly different. In that case, a second step consisted in testing whether one parameter of the FR (either a or h) could nevertheless be considered identical for the two FRs by comparing (with LRTs) the fitting of the 4-parameter model with the fitting of the two 3-parameter models: the one with a common value for attack rate (a) and two distinct values for handling time (h), and the other one with a common value for h and two distinct values for a.

In the second scenario (with uninfected *D. villosus* only), removing the 40 infected *D. villosus* from the whole dataset also reduced sample size. Consequently, a difference in the results between the two scenarios (with and without infected *D. villosus* in the FR comparison) could be the artefact of sample size reduction rather than being due to parasitism. To test this effect in the case where the results for a given FR comparison (*D. villosus* vs. *G. pulex* or *D. villosus* vs. *E. berilloni*) differ between the two scenarios, we randomly removed 40 individuals from the whole dataset in the proportions (to the nearest integer) of uninfected and infected *D. villosus* we had per prey density ($N = 4$: 5 uninfected and 3 infected individuals removed, $N = 6$:6 and 2, $N = 8$:4 and 4, $N = 12$:6 and 2, $N = 20$:5 and 3) and we applied the first step of the model selection analysis described above (i.e. a comparison between the 2-parameter and the 4-parameter models). We repeated the whole procedure 1000 times.

Results

The three gammarid species significantly differed in their body length (Kruskal–Wallis test, $\chi^2 = 178.59$, ddl $= 2$, $p < 10^{-5}$; Fig. 1). *D. villosus* was significantly larger than both *E. berilloni* and *G. pulex* (pairwise comparison tests, both $p < 0.01$) and *G. pulex* was significantly larger than *E. berilloni* (pairwise comparison test, $p < 0.05$). However there was no difference in size between uninfected and infected *D. villosus* (t test, $p = 0.34$).

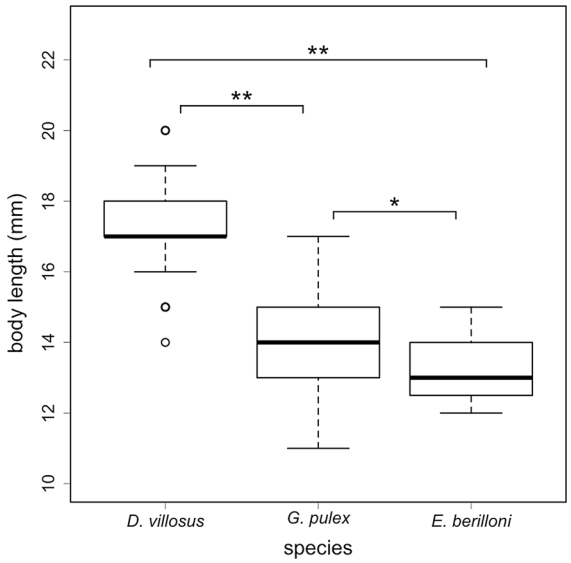


Fig. 1 Body length (median and interquartile range) of the *Dikerogammarus villosus* ($N = 119$), *Gammarus pulex* ($N = 60$) and *Echinogammarus berilloni* ($N = 60$) individuals used in the functional response experiments. * and ** a significant difference with respectively $p < 0.05$ and $p < 0.01$

No mortality was observed in control groups, suggesting that death of the *Chaoborus* larvae during the FR experiments was due to gammarid predation.

For all the amphipod species, the lowest AIC_c values were obtained with the type II FR model (Table 2). However, the type I FR model for *G. pulex* and the type III FR model for *D. villosus* performed as well as the type II FR model as suggested by the

corresponding ΔAIC_c values, which were below the threshold of two (Table 2). In the previous FR experiments on gammarids carried out in similar conditions (i.e. no shelter provided), the FR was always found to be of type II (Bollache et al. 2008; Dick et al. 2010; Kestrup et al. 2011; Médoc et al. 2013; Dodd et al. 2014). It is therefore reasonable to assume that the type II FR is also the best model to describe gammarid predation in the present study (Figs. 2, 3, 4). Parameter estimates with 95% confidence intervals for the type II FR model are given in Table 3.

When comparing *G. pulex* and *E. berilloni* with all *D. villosus* individuals (Figs. 2a, 3a), the model selection procedure indicated significantly different FRs because of a significant fitting improvement between the 2-parameter model and the 4-parameter models (Figs. 2c, 3c). In both cases, the 4-parameter model did not fit significantly better than the two 3-parameter models, suggesting that one of the two FR parameters could nevertheless be considered identical between *D. villosus* and the other species (Figs. 2c, 3c). However, for both comparisons (*D. villosus* vs. *G. pulex* and *D. villosus* vs. *E. berilloni*) and because of the very close AIC_c values of the two 3-parameter models, we were not able to discriminate between these two models and therefore to known which FR parameter could be considered identical (Figs. 2e, f, 3e, f). Anyway, all the selected models indicated a higher killing rate for *D. villosus* at intermediate and high prey densities.

When considering uninfected *D. villosus* individuals only (Fig. 2b), again, the model selection procedure selected indistinctly the two 3-parameter models for the FR comparison with *G. pulex* (Fig. 2d, g, h). By contrast, in the FR comparison with *E. berilloni* (Fig. 3b), the procedure did not detect any significant difference as the additional parameters of the 4-parameter model did not bring any fitting improvement compared to the 2-parameter model (Fig. 3d, g).

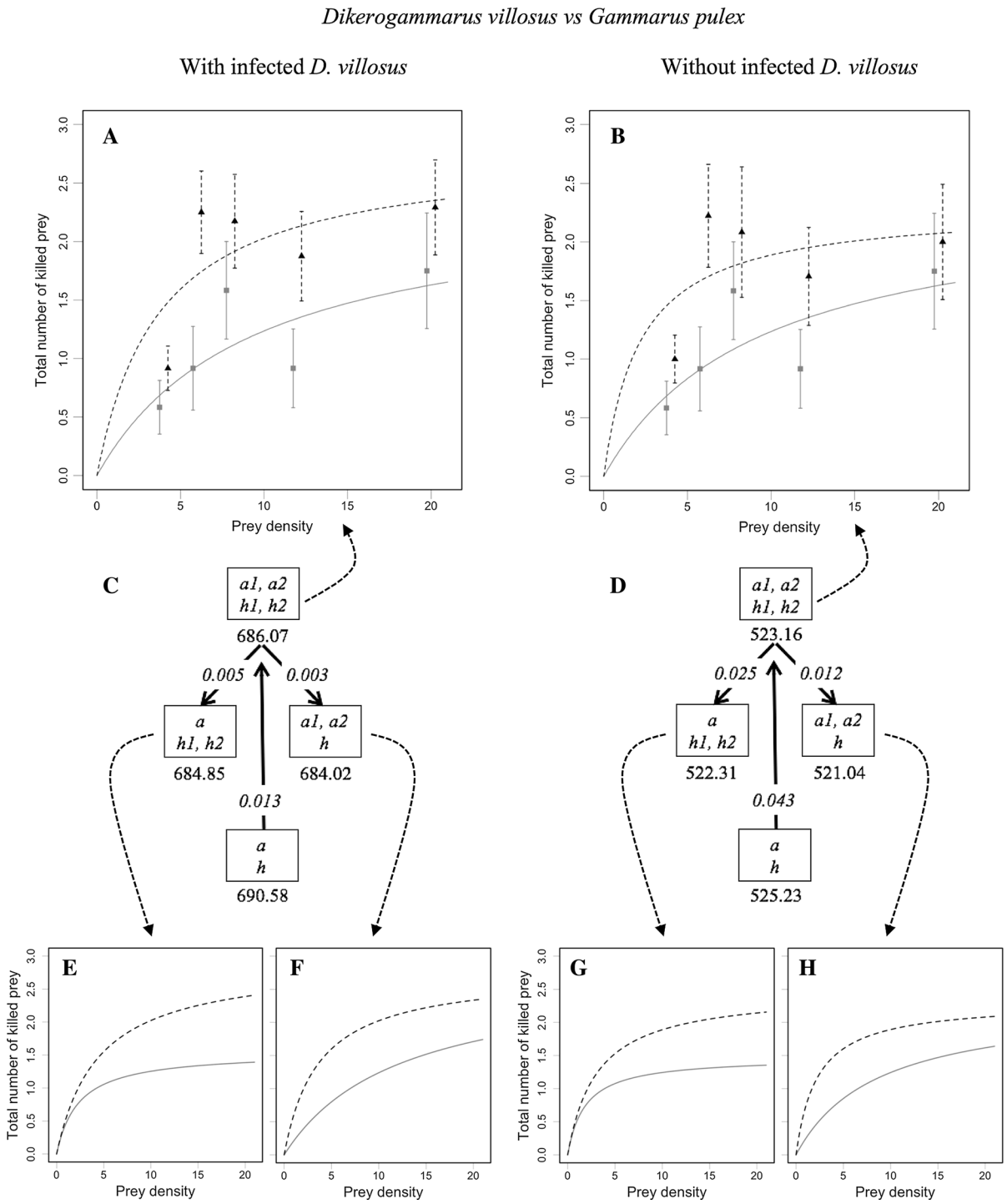
The results of the FR comparison between *D. villosus* and *E. berilloni* differed between the two scenarios (Fig. 3c, e, f vs. Fig. 3d, g). The random removal of 40 *D. villosus* individuals from the whole dataset to test whether this difference could be due to sample-size reduction resulted in the selection of the 4-parameter model over the 2-parameter model in 490 of the 1000 comparisons.

Fig. 2 Functional response (FR) comparison between two gammarid species: the invasive *Dikerogammarus villosus* and the native *Gammarus pulex*, feeding on dipteran larvae. The FR comparison was made under two scenarios: with or without *D. villosus* individuals infected by *Cucumispora dikerogammari* at a natural prevalence in the dataset. **a**, **b** The figurative elements are direct observations of the total number of killed prey (mean ± SD) and the curves are the fits of the "per-species" type II FR models for *D. villosus* (triangles and dashed curve) and *G. pulex* (squares and grey curve). **c**, **d** Results of our model selection procedure comparing the simplest model assuming similar parameter values for both species (the 2-parameter model *a*, *h*) to the most complex model assuming different parameter values for each species (the 4-parameter model *a*1, *a*2, *h*1, *h*2) (first step), and if necessary comparing the most complex model to the two intermediate models assuming similar values for one of the two parameters (the 3-parameter models *a*, *h*1, *h*2 and *a*1, *a*2, *h*) (second step, see text for further details). The numbers below the models are the Akaike criterion (AIC_c) values and the italic numbers on the arrows indicate the *p* values of the likelihood ratio tests. From **e** to **h** FR curves resulting from the model selection procedure, the dashed arrows indicating the corresponding model

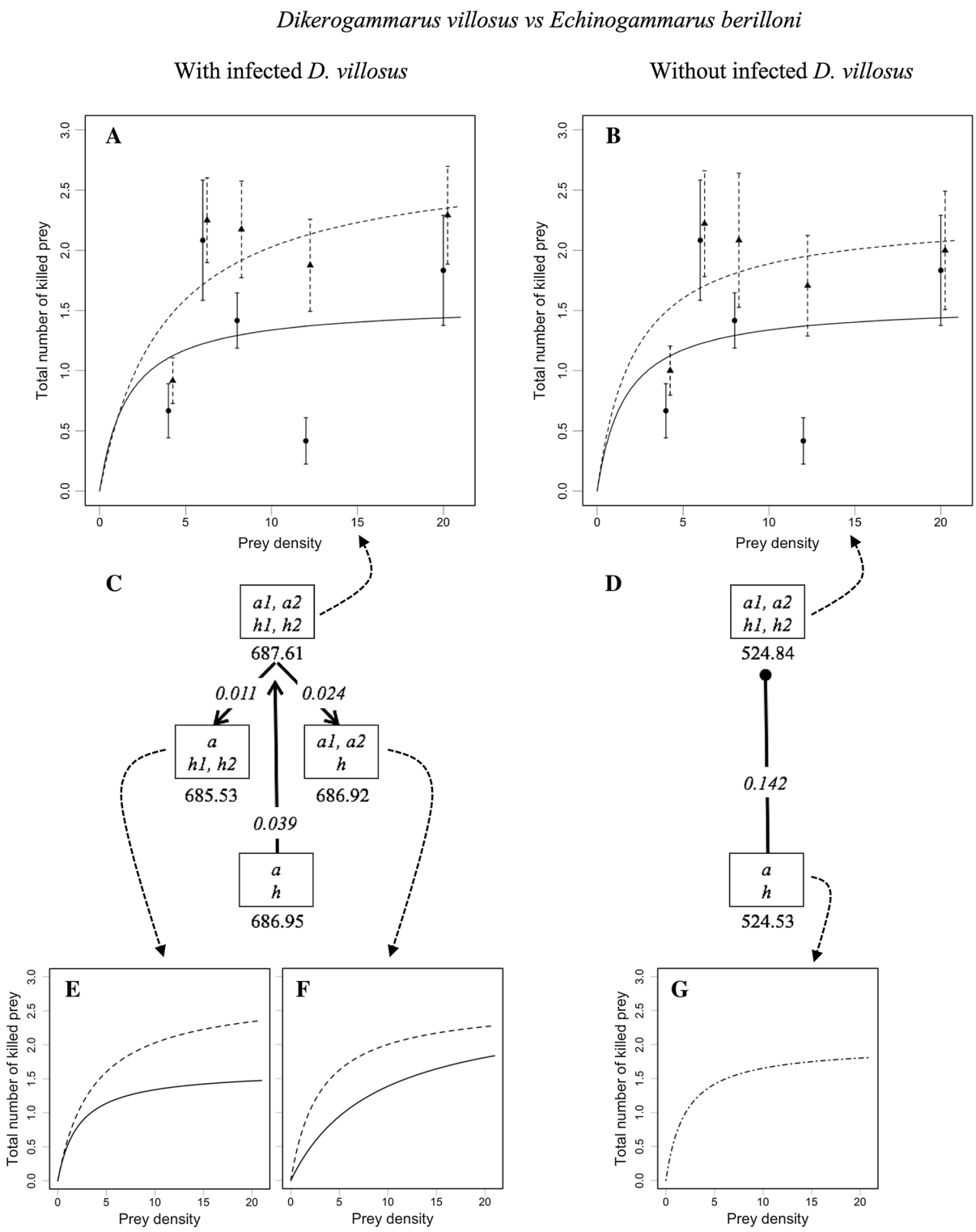
Table 2 Akaike criteria (AIC_c) for the three candidate functional response models and the three gammarid species: *Gammarus pulex*, *Echinogammarus berilloni* and *Dikerogammarus villosus* with uninfected individuals only, *Cucumispora dikerogammari*-infected individuals only, or both

Model	*G. Pulex*	*E. berilloni*	*D. villosus* (uninfected only)	*D. villosus* (infected only)	*D. villosus* (total)
Type I	207.69	215.18	326.61	167.91	492.07
	(1)	(6.15)	(13.04)	(2.46)	(17.21)
Type II	**206.69**	**209.03**	**313.57**	**165.45**	**474.86**
Type III	208.84	211.25	315.08	166.39	475.71
	(2.15)	(2.22)	(1.51)	(0.94)	(0.85)

Values in brackets correspond to ΔAIC_c: the difference between the AIC_c value for the current model and the lowest AIC_c value (in bold) for the given species. See Table 1 for details on the functional response models and their parameters



Although infected *D. villosus* tended to have a smaller attack rate and a smaller handling time than their uninfected counterparts (Table 3), the model selection procedure led to the simplest model with only two parameters (LRT, $p = 0.348$), indicating no significant difference in FR (Fig. 4).


Dikerogammarus villosus vs Echinogammarus berilloni
With infected D. villosus
Without infected D. villosus
A
B
Total number of killed prey
Prey density
C
D
a1, a2
h1, h2
687.61
0.011
0.024
a
h1, h2
685.53
a1, a2
h
686.92
0.039
a
h
686.95
524.84
0.142
524.53
E
F
G

◀**Fig. 3** Functional response (FR) comparison between two gammarid species: the invasive *Dikerogammarus villosus* and the non-invasive *Echinogammarus berilloni*, feeding on dipteran larvae. The FR comparison was made under two scenarios: with or without *D. villosus* individuals infected by *Cucumispora dikerogammari* at a natural prevalence in the dataset. **a**, **b** The figurative elements are direct observations of the total number of killed prey (mean ± SD) and the curves are the fits of the "per-species" type II FR models for *D. villosus* (triangles and dashed curve) and *E. berilloni* (dots and black curve). **c**, **d** Results of our model selection procedure comparing the simplest model assuming similar parameter values for both species (the 2-parameter model *a*, *h*) to the most complex model assuming different parameter values for each species (the 4-parameter model *a*1, *a*2, *h*1, *h*2) (first step), and if necessary comparing the most complex model to the two intermediate models assuming similar values for one of the two parameters (the 3-parameter models *a*, *h*1, *h*2 and *a*1, *a*2, *h*) (second step, see text for further details). The numbers below the models are the Akaike criterion (AIC_c) values and the italic numbers on the arrows indicate the *p* values of the likelihood ratio tests. From **e** to **g** FR curves resulting from the model selection procedure, the dashed arrows indicating the corresponding model

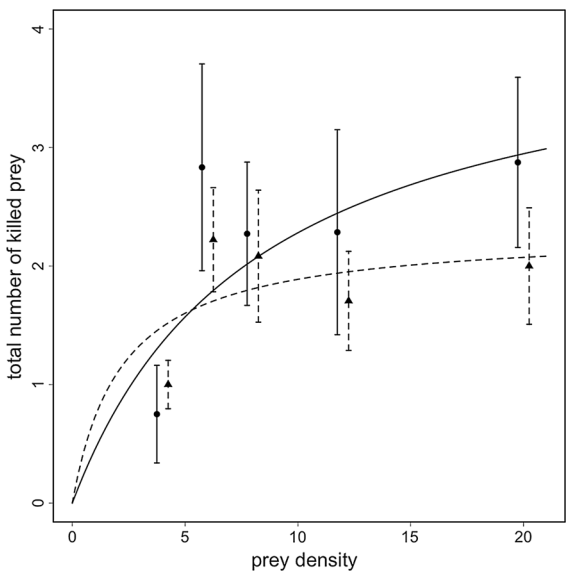


Fig. 4 Relationship between the total number of killed prey and the prey density for the invasive gammarid *Dikerogammarus villosus* feeding on dipteran larvae. The figurative elements are direct observations (mean ± SD) and the curves are the fits of the type II functional response (FR) models for either uninfected individuals (triangles and dashed curve) or individuals infected by *Cucumispora dikerogammari* (dots and solid curve). Because the model selection procedure (not shown) indicated no significant difference between the two FRs, the FR curve that best describes *D. villosus* predation is the one depicted in Figs. 2a and 3a (triangles and dashed curve)

Discussion

Although the enemy release hypothesis predicts the loss of natural enemies during the introduction process (Keane and Crawley 2002), co-introduced parasites are common (Lymbery et al. 2014). As an example, the microsporidian parasite *Cucumispora dikerogammari* has invaded Western Europe along with its gammarid host *Dikerogammarus villosus* (Wattier et al. 2007; Ovcharenko et al. 2010). Because infected gammarids were found to display reduced predation compared to uninfected specimens (Bacela-Spychalska et al. 2014), the presence *C. dikerogammari* may modulate the ecological impact of *D. villosus* in invaded areas. To test this assumption, and also to test whether parasitism may represent a confounding factor when assessing the ecological impact of an invasive species, we compared the functional response (FR) of *D. villosus* infected or not with *C. dikerogammari* with that of two non-invasive gammarids.

As expected and consistently with previous findings on gammarids' FR (Bollache et al. 2008; Dick et al. 2010; Kestrup et al. 2011; Médoc et al. 2013, 2015; Dodd et al. 2014; Bovy et al. 2015), the three gammarid species displayed a type II FR in which predation rate rises to an asymptote as a function of prey density. Compared to the less destabilizing type III FR, the type II FR is common in simple environments with a single prey species and no predator-free space, implying that the predator is efficient even at low prey densities (Barrios-O'Neill et al. 2015).

For both non-invasive gammarid species, we found a significant difference in FR with *D. villosus* when all individuals were included (first scenario). However, as the model selection procedure led indiscriminately to the two 3-parameter models, we cannot know whether the difference in FR is because *D. villosus* displayed a smaller handling time resulting in a FR with a higher asymptote (Figs. 2e, 3e), or a higher attack rate resulting in a FR with a steeper initial slope (Figs. 2f, 3f). From a behavioural perspective, *G. pulex* and *E. berilloni* actively search for their prey whereas *D. villosus* behaves like a sit-and-wait predator, attacking free-swimming animals from a steady position (Platvoet et al. 2009). Attack rate directly depends on predator–prey encounter rate, and therefore on predator's activity level. So, although we did not record activity during our experiments, we may expect that given its hunting strategy, it is quite unlikely for

Table 3 Estimates of the functional response parameters (attack rate *a* and handling time *h*) of the type II model for the three gammarid species: *Gammarus pulex, Echinogammarus berilloni* and *Dikerogammarus villosus* with uninfected individuals only, *Cucumispora dikerogammari*-infected individuals only, or both

Functional response parameter	*G. pulex*	*E. berilloni*	*D. villosus* (uninfected only)	*D. villosus* (infected only)	*D. villosus* (total)
a	0.032	0.119	0.132	0.063	0.093
[95% CI]	[0.014; 0.230]	[0.023; 1.42]	[0.038; 1.54]	[0.026; 0.468]	[0.040; 0.660]
h	3.35	5.14	3.48	1.92	2.87
[95% CI]	[0.506; 6.50]	[1.91; 7.07]	[1.74; 4.75]	[0.363; 3.60]	[1.63; 4.12]

95% confidence intervals were obtained by bootstrapping (see the "Materials and methods" section for further detail)

D. villosus to have a higher attack rate than *G. pulex* and *E. berilloni*. From a morphological perspective, *D. villosus* is bigger and therefore potentially stronger, and displays adaptations to a more predatory life style including well-developed gnathopods, second antennae and mouthparts (Mayer et al. 2008; Platvoet et al. 2009; van der Velde et al. 2009). This may facilitate prey handling and ingestion, and thus reduce handling time. So, the 3-parameter model that includes similar attack rates and a smaller handling time for *D. villosus* (Figs. 2e, 3e) probably better explains the FR difference between *D. villosus* and the two non-invasive gammarids. Overall, the higher FR of *D. villosus* compared to *G. pulex* and *E. berilloni* suggests a stronger predatory impact, which corroborates the documented field impacts of *D. villosus* and is consistent with the already published FR comparisons between *D. villosus* and other gammarids (Bollache et al. 2008; Dodd et al. 2014; Bovy et al. 2015, but see Médoc et al. 2015 for predation tests with multiple predators).

C. dikerogammari-infected *D. villosus* displayed smaller attack rate and handling time than uninfected *D. villosus*, although this difference was not statistically significant probably because of a too small sample size. The two FR curves crossed over because the higher attack rate of uninfected *D. villosus* resulted in a steeper initial slope whereas their higher handling time resulted in a lower asymptote (Fig. 4). This suggests that the difference in predation pressure between uninfected and infected *D. villosus* might vary with prey density, with uninfected individuals being more predatory in low prey densities and vice versa for high prey densities. A decrease in both attack rate and handling time induced by infection may lead to antagonistic predictions in terms of predatory impact, but we can try to find an explanation based on infection costs. Parasites often rely on hosts' resources, which imposes a metabolic cost that can be compensated for by increased foraging. This has been advanced to explain why infection with the acanthocephalan parasite *Echinorhynchus truttae* increased the FR of *G. pulex* (Dick et al. 2010; Laverty et al. 2017). In our study, the predation rate of infected *D. villosus* might have saturated at higher prey densities compared to uninfected individuals to cope with the parasite-induced increase in metabolic demand, which would have resulted in a FR reaching a higher asymptote. Handling time being the inverse of the asymptote, this could explain why *C. dikerogammari* infection tended to decrease the handling time of *D. villosus*. To investigate further the metabolic cost induced by infection, it would be interesting to record the biomass of prey consumed in addition to the number of killed prey and to compare the FRs obtained with both metrics for infected and uninfected *D. villosus*. A parasite-induced increase in the metabolic demand could increase the biomass of prey consumed without necessarily changing the number of killed prey. At low prey densities, a smaller attack rate might reflect the negative effect of *C. dikerogammari* infection on the overall performance of *D. villosus*, resulting in a reduced capacity to find prey in poor environments. Additional FR experiments with more infected individuals and behavioural measurements could help understand our results.

Using classical predation tests (i.e. with a single prey density) with live chironomid larvae, Bacela-Spychalska et al. (2014) found that *C. dikerogammari* infection made *D. villosus* less predatory. This reduction in predation rate was significant for symptomatic individuals (i.e. at a stage of infection close to septicaemia) but not for asymptomatic individuals (i.e. at an early stage of infection). In the present study,

infected *D. villosus* were mostly asymptomatic and a PCR analysis was needed to identify infection. Our results therefore provide precision to those of Bacela-Spychalska et al. (2014) involving asymptomatic amphipods. The way the FR curves of uninfected and *C. dikerogammari*-infected *D. villosus* intersect (Fig. 4) suggests that infection tends to decrease predation towards low prey densities and to increase predation towards high prey densities. Such a shift in predation rate was not detected by Bacela-Spychalska et al. (2014), which illustrates the usefulness of the FR approach compared to predation tests with a single prey density. However, the use of different prey species makes it difficult to go further in the comparison of results between our study and that of Bacela-Spychalska et al. (2014).

Accounting for parasitism through the removal of infected *D. villosus* individuals from the dataset (second scenario) did not alter the result of the FR comparison with *G. pulex* (Fig. 2c, e, f vs. Fig. 2d, g, h), although this tended to reduce the magnitude of the difference between the two FR curves (Fig. 2a vs. Fig. 2b). As in the first scenario, the model selection procedure led indiscriminately to the two 3-parameter models. On the contrary, with *E. berilloni*, removing infected *D. villosus* suppressed the difference in FR that we found in the first scenario (Fig. 3c, e, f), the simplest FR model with similar values of attack rate and handling time being the one chosen by the model selection procedure (Fig. 3d, g). This is consistent with the tendency of *C. dikerogammari* to decrease attack rate and handling time that we found when comparing the FR of infected and uninfected *D. villosus*. Removing infected individuals from the comparison probably slightly increased the overall handling time of *D. villosus* and caused its FR to saturate to a lower asymptote, which might have suppressed the significant difference in FR. However the random removal of *D. villosus* individuals from the dataset led to the 2-parameter FR model in 510 over the 1000 comparisons that we made. It follows that the between-scenario difference in the results of the FR comparison involving *D. villosus* and *E. berilloni* was not necessarily due to parasitism but might result from sample size reduction.

C. dikerogammari was found in most of the introduced *D. villosus* populations all over Europe with low prevalences in recently-colonized sites, high prevalences sometimes reaching peaks of 72% in sites sampled three to five years after initial colonization, and medium prevalences in sites colonized for a long time (Wattier et al. 2007). Our results on the FR comparison between *D. villosus* and *E. berilloni* illustrate how this co-introduced parasite might mediate the ecological impact of its invasive host, more particularly in a rich environment (i.e. at high prey densities when the predator saturates). Indeed, *D. villosus* displayed a significantly higher FR, suggesting a stronger predatory impact, only in the presence of *C. dikerogammari*. It follows that the predation impact of *D. villosus* might be lower in uninfected populations, or at the beginning of the invasion process when the prevalence of *C. dikerogammari* is low. Infection might increase the predation pressure on local prey populations in case of invasion with species replacement between *E. berilloni* and *D. villosus*. Our investigation also suggests that what can be inferred from a given pairwise FR comparison cannot be extrapolated to other species, as *C. dikerogammari* infection did not change the results of the FR comparison between *D. villosus* and *G. pulex*. In addition to parasitism, other environmental factors likely to shape FR differences such as predator density, habitat complexity, super-predation (reviewed in Médoc and Spataro 2015) must be taken into account to fully characterize the predation impact of an invasive species.

In terms of impact prediction, our study illustrates how ignoring parasitism might alter our ability to predict invasive species impact based on FR comparisons. This is an issue for the parasites whose detection needs molecular investigations and it would be interesting to known to what extent *C. dikerogammari* infection contributes to the results of the previously published FR comparisons involving *D. villosus* (Bollache et al. 2008; Dodd et al. 2014; Bovy et al. 2015; Médoc et al. 2015).

Acknowledgements We thank the Foljuif biological station for providing excellent working conditions and the three anonymous referees for their constructive comments.

References

Bacela-Spychalska K, van Der Velde G (2013) There is more than one "killer shrimp": trophic positions and predatory abilities of invasive amphipods of Ponto-Caspian origin. Freshw Biol 58:730–741. doi:10.1111/fwb.12078

Bacela-Spychalska K, Wattier RA, Genton C, Rigaud T (2012) Microsporidian disease of the invasive amphipod *Dikerogammarus villosus* and the potential for its transfer to local invertebrate fauna. Biol Inv 14:1831–1842. doi:10.1007/s10530-012-0193-1

Bacela-Spychalska K, Rigaud T, Wattier RA (2014) A co-invasive microsporidian parasite that reduces the predatory behaviour of its host *Dikerogammarus villosus* (Crustacea, Amphipoda). Parasitology 141:254–258. doi:10.1017/S0031182013001510

Barrios-O'Neill D, Dick JTA, Emmerson MC, Ricciardi A, MacIsaac HJ (2015) Predator-free space, functional responses and biological invasions. Funct Ecol 29:377–384. doi:10.1111/1365-2435.12347

Bollache L, Dick JTA, Farnsworth KD, Montgomery WI (2008) Comparison of the functional responses of invasive and native amphipods. Biol Lett 4:166–169. doi:10.1098/rsbl.2007.0554

Bovy HC, Barrios-O'Neill D, Emmerson MC, Aldridge DC, Dick JTA (2015) Predicting the predatory impacts of the "demon shrimp" *Dikerogammarus haemobaphes*, on native and previously introduced species. Biol Inv 17:597–607. doi:10.1007/s10530-014-0751-9

Buřič M, Kočí L, Petrusek A, Kouba A, Kozák P (2009) Invaders eating invaders: potential trophic interactions between the amphipod *Dikerogammarus villosus* and juvenile crayfish *Orconectes limosus*. Knowl Manag Aquat Ecosyst. doi:10.1051/kmae/2009015

Byers JE, Wright JT, Gribben PE (2010) Variable direct and indirect effects of a habitat—modifying invasive species on mortality of native fauna. Ecology 91:1787–1798. doi:10.1890/09-0712.1

Carpenter SR, Stanley EH, Vander Zanden MJ (2011) State of the world's freshwater ecosystems: physical, chemical, and biological changes. Annu Rev Environ Resour 36:75–99. doi:10.1146/annurev-environ-021810-094524

Casellato S, Visentin A, La Piana G (2007) The predatory impact of Dikerogammarus on fish. In: Gherardi F (ed) Biological invaders in inland waters: profiles, distribution, and threats. Springer, Dordrecht, pp 495–506. 1:732. doi:10.1017/CBO9781107415324.004

Dick JT, Platvoet D (2000) Invading predatory crustacean *Dikerogammarus villosus* eliminates both native and exotic species. Proc R Soc Lond 267:977–983. doi:10.1098/rspb.2000.1099

Dick JTA, Platvoet D, Kelly DW (2002) Predatory impact of the freshwater invader *Dikerogammarus villosus* (Crustacea: Amphipoda). Can J Fish Aquat Sci 59:1078–1084. doi:10.1139/F02-074

Dick JTA, Armstrong M, Clarke HC, Farnsworth KD, Hatcher MJ, Ennis M, Kelly A, Dunn AM (2010) Parasitism may enhance rather than reduce the predatory impact of an invader. Biol Lett 6:636–638. doi:10.1098/rsbl.2010.0171

Dick JTA, Alexander ME, Jeschke JM, Ricciardi A, MacIsaac HJ, Robinson TB, Kumschick S, Weyl OLF, Dunn AM, Hatcher MJ, Paterson RA, Farnsworth KD, Richardson DM (2014) Advancing impact prediction and hypothesis testing in invasion ecology using a comparative functional response approach. Biol Inv 16:735–753. doi:10.1007/s10530-013-0550-8

Dodd JA, Dick JTA, Alexander ME, MacNeil C, Dunn AM, Aldridge DC (2014) Predicting the ecological impacts of a new freshwater invader: functional responses and prey selectivity of the "killer shrimp", *Dikerogammarus villosus*, compared to the native *Gammarus pulex*. Freshw Biol 59:337–352. doi:10.1111/fwb.12268

Dunn AM (2009) Parasites and biological invasions. Adv Parasitol 68:161–184. doi:10.1016/S0065-308X(08)00607-6

Dunn AM, Hatcher MJ (2015) Parasites and biological invasions: parallels, interactions, and control. Trends Parasitol 31:189–199. doi:10.1016/j.pt.2014.12.003

Dunn AM, Smith JE (2001) Microsporidian life cycles and diversity: the relationship between virulence and transmission. Microbes Infect 3:381–388. doi:10.1016/S1286-4579(01)01394-6

Gentleman WC, Neuheimer AB (2008) Functional responses and ecosystem dynamics: how clearance rates explain the influence of satiation, food-limitation and acclimation. J Plankton Res 30:1215–1231. doi:10.1093/plankt/fbn078

Grabner DS, Weigand AM, Leese F, Winking C, Hering D, Tollrian R, Sures B (2015) Invaders, natives and their enemies: distribution patterns of amphipods and their microsporidian parasites in the Ruhr Metropolis, Germany. Parasit Vectors 8:419. doi:10.1186/s13071-015-1036-6

Hassell MP, Lawton JH, Beddington JR (1977) Sigmoid functional responses by invertebrate predators and parasitoids. J Anim Ecol 46:249–262

Hellmann C, Worischka S, Mehler E, Becker J, Gergs R, Winkelmann C (2015) The trophic function of *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894) in invaded rivers: a case study in the Elbe and Rhine. Aquat Inv 10:385–397. doi:10.3391/ai.2015.10.4.03

Holling CS (1959a) Some characteristics of simple types of predation and parasitism. Can Entomol 91:385–398. doi:10.4039/Ent91385-7

Holling CS (1959b) The components of predation as revealed by a study of small-mammal predation of the european pine sawfly. Can Entomol 91:293–320. doi:10.4039/Ent91293-5

Juliano SA (2001) Non-linear curve fitting: predation and functional response curves. In: Scheiner SM, Gurevitch J (eds) Design and analysis of ecological experiments. Oxford University Press, Oxford, pp 178–196

Kalinkat G, Schneider FD, Digel C, Guill C, Rall BC, Brose U (2013) Body masses, functional responses and predator–prey stability. Ecol Lett 16:1126–1134. doi:10.1111/ele.12147

Keane RM, Crawley MJ (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. Trends Ecol Evol 17:164–170. doi:10.1016/S0169-5347(02)02499-0

Kelly ADW, Paterson RA, Townsend CR, Poulin R, Tompkins DM (2009) Parasite spillback: a neglected concept in invasion ecology? Ecology 90:2047–2056. doi:10.1890/08-1085.1

Kestrup ÅM, Dick JTA, Ricciardi A (2011) Interactions between invasive and native crustaceans: differential functional responses of intraguild predators towards juvenile hetero-specifics. Biol Inv 13:731–737. doi:10.1007/s10530-010-9863-z

Koester M, Bayer B, Gergs R (2016) Is *Dikerogammarus villosus* (Crustacea, Gammaridae) a "killer shrimp" in the

River Rhine system? Hydrobiologia 768:299–313. doi:10.1007/s10750-015-2558-9

Kolar CS, Lodge DM (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. Trends Ecol Evol 16:199–204. doi:10.1016/S0169-5347(01)02101-2

Krisp H, Maier G (2005) Consumption of macroinvertebrates by invasive and native gammarids: a comparison. J Limnol 64:55–59. doi:10.4081/jlimnol.2005.55

Laverty C, Brenner D, McIlwaine C, Lennon JJ, Dick JTA, Lucy FE, Christian KA (2017) Temperature rise and parasitic infection interact to increase the impact of an invasive species. Int J Parasitol. doi:10.1016/j.ijpara.2016.12.004

Lymbery AJ, Morine M, Kanani HG, Beatty SJ, Morgan DL (2014) Co-invaders: the effects of alien parasites on native hosts. Int J Parasitol Parasites Wildl 3:171–177. doi:10.1016/j.ijppaw.2014.04.002

MacNeil C, Platvoet D (2005) The predatory impact of the freshwater invader *Dikerogammarus villosus* on native *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda); influences of differential microdistribution and food resources. J Zool 267:31. doi:10.1017/S0952836905007351

MacNeil C, Platvoet D, Dick JTA, Fielding N, Constable A, Hall N, Aldridge D, Renals T, Diamond M (2010) The Ponto-Caspian "killer shrimp", *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), invades the British Isles. Aquat Inv 5:441–445. doi:10.3391/ai.2010.5.4.15

MacNeil C, Dick JTA, Platvoet D, Briffa M (2011) Direct and indirect effects of species displacements: an invading freshwater amphipod can disrupt leaf-litter processing and shredder efficiency. J N Am Benthol Soc 30:38–48. doi:10.1899/10-056.1

MacNeil C, Boets P, Lock K, Goethals PLM (2013) Potential effects of the invasive "killer shrimp" (*Dikerogammarus villosus*) on macroinvertebrate assemblages and biomonitoring indices. Freshw Biol 58:171–182. doi:10.1111/fwb.12048

Mattos KJ, Orrock JL (2010) Behavioral consequences of plant invasion: an invasive plant alters rodent antipredator behavior. Behav Ecol 21:556–561. doi:10.1093/beheco/arq020

Mayer G, Maier G, Maas A, Waloszek D (2008) Mouthparts of the ponto-caspian invader *Dikerogammarus villosus* (Amphipoda: Pontogammaridae). J Crustac Biol 28:1–15. doi:10.1651/07-2867R.1

Médoc V, Spataro T (2015) Predicting the impact of invasive species: a look forward on the comparative functional response approach. Rev Ecol (Terre Vie) 70(supp. 12):114–136

Médoc V, Spataro T, Arditi R (2013) Prey:predator ratio dependence in the functional response of a freshwater amphipod. Freshw Biol 58:858–865. doi:10.1111/fwb.12091

Médoc V, Albert H, Spataro T (2015) Functional response comparisons among freshwater amphipods: ratio-dependence and higher predation for *Gammarus pulex* compared to the non-natives *Dikerogammarus villosus* and *Echinogammarus berilloni*. Biol Inv 17:3625–3637. doi:10.1007/s10530-015-0984-2

Médoc V, Firmat C, Sheath DJ, Pegg J, Andreou D, Britton JR (2017) Parasites and biological invasions: predicting ecological alterations at levels from individual hosts to whole networks. Adv Ecol Res. doi:10.1016/bs.aecr.2016.10.003

Murdoch WW, Oaten A (1975) Predation and population stability. Adv Ecol Res 9:1–131

Nakaya T, Fotheringham AS, Brunsdon C, Charlton M (2005) Geographically weighted Poisson regression for disease association mapping. Stat Med 24:2695–2717. doi:10.1002/sim.2129

Norman R, Bowers RG, Begon M, Hudson PJ (1999) Persistence of tick-borne virus in the presence of multiple host species: tick reservoirs and parasite mediated competition. J Theor Biol 200:111–118. doi:10.1006/jtbi.1999.0982

Ojaveer H, Leppäkoski E, Olenin S, Ricciardi a (2002) Ecological impact of Ponto-Caspian invaders in the Baltic Sea, European inland waters and the Great Lakes: an inter-ecosystem comparison. In: Invasive aquat species of Europe. Distribution, impacts and management. Springer, Netherlands, pp 412–425

Ostfeld RS, Keesing F (2000) Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. Conserv Biol 14:722–728. doi:10.1046/j.1523-1739.2000.99014.x

Ovcharenko MO, Bącela K, Wilkinson T, Ironside JE, Rigaud T, Wattier RA (2010) *Cucumispora dikerogammari* n. gen. (Fungi: Microsporidia) infecting the invasive amphipod *Dikerogammarus villosus*: a potential emerging disease in European rivers. Parasitology 137:191–204. doi:10.1017/S0031182009991119

Paolucci EM, Macisaac HJ, Ricciardi A (2013) Origin matters: Alien consumers inflict greater damage on prey populations than do native consumers. Divers Distrib 19:988–995. doi:10.1111/ddi.12073

Piscart C, Mermillod-Blondin F, Maazouzi C, Merigoux S, Marmonier P (2011) Potential impact of invasive amphipods on leaf litter recycling in aquatic ecosystems. Biol Inv 13:2861–2868. doi:10.1007/s10530-011-9969-y

Platvoet D, van der Velde G, Dick JTA, Li SQ (2009) Flexible omnivory in *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894) (Amphipoda). Crustaceana 82:703–720. doi:10.1163/156854009x423201

Power AG, Mitchell CE (2004) Pathogen spillover in disease epidemics. Am Nat 164(S5):S79–S89. doi:10.1086/424610

Prenter J, MacNeil C, Dick JTA, Dunn AM (2004) Roles of parasites in animal invasions. Trends Ecol Evol 19:385–390. doi:10.1016/j.tree.2004.05.002

Rewicz T, Grabowski M, MacNeil C, Bącela-Spychalska K (2014) The profile of a 'perfect' invader the case of killer shrimp, *Dikerogammarus villosus*. Aquat Inv 9:267–288. doi:10.3391/ai.2014.9.3.04

Riley LA, Dybdahl MF (2015) The roles of resource availability and competition in mediating growth rates of invasive and native freshwater snails. Freshw Biol 60:1308–1315. doi:10.1111/fwb.12566

Sala OE, Chapin FS, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Huber-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzig A, Leemans R, Lodge DM, Mooney HA, Oesterheld M, LeRoy Poff N, Sykes MT, Walker BH, Walker M, Wall DH (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. Science 287:1770–1774. doi:10.1126/science.287.5459.1770

Solomon ME (1949) The natural control of animal populations. J Anim Ecol 18:1–35

Strauss A, White A, Boots M (2012) Invading with biological weapons: the importance of disease-mediated invasions. Funct Ecol 26:1249–1261. doi:10.1111/1365-2435.12011

Terry RS, Smith JE, Sharpe RG, Rigaud T, Littlewood DTJ, Ironside JE, Rollinson D, Bouchon D, MacNeil C, Dick JTA, Dunn AM (2004) Widespread vertical transmission and associated host sex-ratio distortion within the eukaryotic phylum Microspora. Proc R Soc B Biol Sci 271:1783–1789. doi:10.1098/rspb.2004.2793

Tompkins DM, White AR, Boots M (2003) Ecological replacement of native red squirrels by invasive greys driven by disease. Ecol Lett 6:189–196. doi:10.1046/j.1461-0248.2003.00417.x

Torchin ME, Lafferty KD, Dobson AP, McKenzie VJ, Kuris AM (2003) Introduced species and their missing parasites. Nature 421:628–630. doi:10.1038/nature01346

Truhlar AM, Dodd JA, Aldridge DC (2014) Differential leaf-litter processing by native (*Gammarus pulex*) and invasive (*Dikerogammarus villosus*) freshwater crustaceans under environmental extremes. Aquat Conserv Mar Freshw Ecosyst 24:56–65. doi:10.1002/aqc.2375

US EPA (Environmental Protection Agency) (2008) Predicting future introductions of nonindigenous species to the Great Lakes, National Center for Environmental Assessment, Washington, DC; EPA/600/R-08/066F. Available from the National Technical Information Service, Spring Field, VA, and http://www.epa.gov/ncea

van der Velde G, Rajagopal S, Kelleher B, Muskó IB, Bij de Vaate A (2000) Ecological impact of crustacean invaders: general considerations and examples from the Rhine River. Crustac Issues 12:3–33

van der Velde G, Leuven RSEW, Platvoet D et al (2009) Environmental and morphological factors influencing predatory behaviour by invasive non-indigenous gammaridean species. Biol Invasions 11:2043–2054. doi:10.1007/s10530-009-9500-x

van Riel MC, van der Velde G, Rajagopal S, Marguillier S, Dehairs F, Bij de Vaate A (2006) Trophic relationships in the Rhine food web during invasion and after establishment of the Ponto-Caspian invader *Dikerogammarus villosus*. Hydrobiologia 565:39–58. doi:10.1007/s10750-005-1904-8

Wallentinus I, Nyberg CD (2007) Introduced marine organisms as habitat modifiers. Mar Pollut Bull 55:323–332. doi:10.1016/j.marpolbul.2006.11.010

Wattier RA, Haine ER, Beguet J, Martin G, Bollache L, Muskó IB, Platvoet D, Rigaud T (2007) No genetic bottleneck or associated microparasite loss in invasive populations of a freshwater amphipod. Oikos 116:1941–1953. doi:10.1111/j.2007.0030-1299.15921.x