

Sommaire

Introduction générale.....	17
Le modèle biologique d'étude	19
Organisation du manuscrit et objectifs spécifiques de la thèse.....	21
<i>Chapitre I</i>	26
La lutte biologique : généralités et apports de l'écologie et de la biologie évolutive	27
1. La lutte biologique : quelques définitions	27
1.1. Méthodes d'application des agents de lutte biologique	29
1.2. Modalités de lutte biologique.....	30
2. La gestion des introductions d'agents de lutte biologique (classique)	31
2.1. Le statut taxonomique de populations de ravageurs et d'agents de lutte biologique.	32
2.2. La spécificité des agents de lutte biologique.....	34
2.3. Microorganismes associés aux agents de lutte biologique.....	36
2.4. Le comportement des agents de lutte biologique	43
2.5. Les capacités adaptatives des agents de lutte biologique.....	49
<i>Chapitre II</i>	54
Différenciation morphométrique et génétique, et isolement reproductif entre populations du parasitoïde <i>Cotesia plutellae</i>	55
1. Contexte de l'étude	55
2. Objectifs de l'étude	56
3. Présentation des travaux et méthodes utilisées	57
Article 1. Reproductive isolation and differentiation between five populations of <i>Cotesia plutellae</i> (Hymenoptera: Braconidae), parasitoid of <i>Plutella xylostella</i> (Lepidoptera: Plutellidae).....	57
Article 2. Reproductive isolation between <i>Cotesia plutellae</i> (Hymenoptera: Braconidae) populations: relative importance of genetics and <i>Wolbachia</i> endosymbionts.	57
Note. Etude des différences génétiques liées aux gènes viraux entre populations de <i>Cotesia plutellae</i> (Hymenoptera: Braconidae)	58
4. Résultats principaux	58
Article 1. Reproductive isolation and differentiation between five populations of <i>Cotesia plutellae</i> (Hymenoptera: Braconidae), parasitoid of <i>Plutella xylostella</i> (Lepidoptera: Plutellidae).....	61
Abstract	61
Keywords	61
1. Introduction	62
2. Materials and Methods	64
2.1. Biological material	64

2.2. Crossing experiments	64
2.3. Morphometric data	65
2.4. Molecular analyses	65
2.5. Statistical procedures and modeling of reproductive incompatibility	66
3. Results	68
3.1. Reproductive compatibility	68
3.2. Morphometric study	73
3.3. Mitochondrial DNA sequences	75
3.4. Detection and prevalence of <i>Wolbachia</i> infection	75
3.5. Models of reproductive incompatibility	75
4. Discussion	80

*Article 2. Reproductive isolation between *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) populations: relative importance of genetics and *Wolbachia* endosymbionts.....* 83

Abstract	83
Keywords	83
1. Introduction	84
2. Materials & Methods.....	86
2.1. Insect rearing	86
2.2. Crossing experiments	86
2.3. Mating success	87
2.4. Detection of <i>Wolbachia</i> infection and sequencing of <i>wsp</i> gene.....	87
2.5. Statistical procedures.....	87
3. Results	88
3.1. Reproductive compatibility between populations	88
3.2. Mating activity and sperm transfer.....	90
3.3. Effects of <i>Wolbachia</i> infection and genetic factors on reproductive compatibility ..	90
4. Discussion	92

*Note. Etude des différences génétiques entre populations de *Cotesia plutellae* (Hymenoptera : Braconidae) liées aux gènes viraux* 97

1. Introduction	97
2. Matériels et Méthodes	98
2.1 Matériel Biologique.....	98
2.2 Analyse moléculaire	99
2.3 Analyse phylogénétique	99
3. Résultats et discussion.....	100

Chapitre III..... 104

*Différenciation et adaptation locale des réponses fonctionnelles et du comportement d'interférence mutuelle chez *Cotesia plutellae*.....* 105

1. Contexte de l'étude	105
2. Matériels et Méthodes utilisés.....	106
3. Résultats principaux	108
4. Discussion	109

<i>Article 3. Local adaptation of functional responses and mutual interference behaviour in <i>Cotesia plutellae</i> (Hymenoptera: Braconidae).....</i>	111
Abstract	111
1. Introduction	112
2. Materials and Methods	114
2.1. Wasps and hosts	114
2.2. Experiment 1: host density	114
2.3. Experiment 2: parasitoid density	115
2.4. Statistical procedures.....	115
2.5. Computer simulations of the evolution of the interference behaviour.....	118
2.6. Analyses of the simulation outputs	122
3. Results	123
3.1 Response to host density	123
3.2. Response to parasitoid density	123
3.3. Determination of functional response models.....	123
3.3. Simulation results.....	128
4. Discussion	132
 <i>Chapitre IV</i>	136
<i>Variation géographique du déterminisme du sexe-ratio chez <i>Cotesia plutellae</i></i>	137
1. Introduction	137
2. Matériels et méthodes.....	141
2.1. Matériel biologique	141
2.2. Expérience 1 : Effet de la densité des mères sur le sexe-ratio de leur descendance	141
2.3. Expérience 2 : Effet de l'âge des mères sur le sexe-ratio de leur descendance	142
2.4. Expérience 3 : Effet du superparasitisme sur le sexe-ratio	142
2.5. Expérience 4 : Patron d'émergence mâle et femelle : l'évolution du sexe-ratio au cours du temps.....	143
2.6. Procédures statistiques	143
3. Résultats	147
3.1. Expérience 1 : Effet de la densité des mères sur le sexe-ratio	147
Les sexe-ratios suivent-ils les modèles théoriques de LMC ?	150
3.2. Expérience 2 : Effet de l'âge des mères sur le sexe-ratio	152
Comparaison de paramètres démographiques.....	153
3.3. Expérience 3 : Effet du superparasitisme sur le sexe-ratio	155
3.4. Expérience 4 : Patron d'émergence mâle et femelle : l'évolution du sexe-ratio au cours du temps.....	157
4. Discussion	159
Causes de la différentiation entre les populations du Bénin et de Martinique dans leur réponse à la densité de femelles fondatrices	159
Causes des excès de mâles par rapport aux prédictions de la LMC.....	162
Variation du comportement au sein d'une même espèce.....	164
5. Conclusion.....	167

<i>Chapitre V</i>	171
Variation géographique du comportement de superparasitisme chez le parasitoïde <i>Cotesia plutellae</i>	171
1. Introduction	171
2. Matériels et méthodes.....	173
2.1. Matériel biologique	174
2.2 Expérience n° 1 : Densité d'hôte et superparasitisme	174
2.3. Expérience n° 2 : Temps d'exposition et superparasitisme.....	175
2.4. Procédure statistique	175
3. Résultats	176
3.1. Expérience n° 1: Densité d'hôte et superparasitisme	176
3.2. Expérience n° 2 : Temps d'exposition et superparasitisme.....	178
3.3. Analyse cumulée de la dispersion des attaques.....	182
4. Discussion	183
<i>Chapitre VI</i>	188
Discussion et conclusions générales	189
1. Différenciation <i>neutre</i>	190
2. Différenciation de traits comportementaux impliqués dans l'interaction avec l'hôte....	191
Les traits comportementaux qui définissent les écotypes sont-ils coadaptés ?	193
Hypothèses sur l'évolution des deux groupes.....	198
1. Scénario 1 : introduction aléatoire, pas d'adéquation écotype-hôte-environnement..	198
2. Scénario 2 : introduction non aléatoire, adéquation écotype-hôte-environnement	198
3. Scénario 3 : introduction aléatoire, sélection naturelle des adéquations écotype-hôte- environnement.....	199
Conclusion : dans la perspective d'une coévolution en mosaïque géographique <i>P. xylostella-C. plutellae</i>	199
Références bibliographiques	201

Introduction générale

Introduction générale

La lutte biologique représente depuis plusieurs années une alternative à la lutte chimique contre les insectes nuisibles, elle est certainement plus saine pour l'homme et son environnement et probablement plus durable d'un point de vue évolutif (Holt & Hochberg 1997, Holt et al. 1999). Comme la lutte chimique, son objectif est de réduire les densités de populations d'insectes nuisibles à des niveaux économiques acceptables. La particularité de la lutte biologique par rapport à la lutte chimique tient principalement à la nécessité du respect de la complexité des systèmes qu'elle utilise et de ceux sur lesquels elle agit. Ceci constitue à la fois sa faiblesse et sa force. La valorisation de cette complexité constitue probablement l'un des enjeux majeurs de l'écologie et de la biologie évolutive appliquées actuelles.

Une diversité d'agents est utilisée comme moyen de lutte biologique contre des ravageurs : prédateurs, parasitoïdes, pathogènes ou herbivores. Ces organismes, ennemis naturels des ravageurs, peuvent être indigènes ou exotiques. Dans le deuxième cas, ils sont originaires de préférence de la zone d'origine des ravageurs. Ce type de lutte est connu comme lutte biologique *classique*. La recherche d'antagonistes dans la zone d'origine des ravageurs repose sur l'hypothèse que les insectes cibles sont devenus ravageurs dans leurs nouvelles localités parce qu'ils y ont échappé à l'action de leurs ennemis naturels (formalisé par Keane & Crawley 2002, sous le terme de *Enemy release hypothesis*) et que les ennemis naturels les plus performants sont ceux qui ont coévolué avec leur hôte. Le succès de nombreuses opérations de lutte biologique classique semble supporter cette hypothèse. Dans la pratique, parce que la zone d'origine du ravageur n'est pas toujours connue, ce contrôle biologique s'est limité à introduire des ennemis naturels originaires des régions exotiques, avec des critères plus ou moins scientifiques (e.g. conditions climatiques semblables, taux de contrôle importants, facilités logistiques, etc.). En effet, les questions de comment gérer les introductions des agents de lutte biologique et comment développer des protocoles d'évaluation ne sont pas simples. Des critères sociaux, économiques et culturels particuliers aux systèmes agraires doivent être considérés. De même, des mécanismes complexes propres aux interactions biotiques doivent être tenus en compte. Je focaliserai sur la complexité biologique des interactions entre **les parasitoïdes, dont de nombreuses espèces sont utilisées en lutte biologique, et leurs hôtes** et considérerai trois aspects principaux :

1. L'évaluation doit considérer la diversité des caractères de l'interaction.

Les parasitoïdes agents de lutte biologique et leurs hôtes entretiennent des relations de parasitisme, qui est la relation la plus spécialisée des associations inter-spécifiques (Boulétreau 1986). Le parasitisme nécessite plusieurs coïncidences entre les deux partenaires pour se mettre en place. Elles sont d'ordre écologique (i.e. la coïncidence spatiale et temporelle de deux partenaires) ainsi que comportementale, physique et physiologique, entre autres. L'aptitude d'un parasitoïde agent de lutte à parasiter son hôte dépend donc de plusieurs traits de vie, chacun corrélé à sa valeur sélective car lui permettant de "coïncider" avec son hôte. Combes (1995) a nommé ces coïncidences "filtres de compatibilité".

2. La méthode d'évaluation est propre au modèle biologique.

Chaque niveau de l'interaction hôte-parasite présente des particularités liées au modèle biologique. Un protocole d'évaluation établi pour un agent de lutte biologique est souvent non-pertinent pour évaluer un autre, la généralisation et la standardisation propres aux méthodes scientifiques sont souvent difficiles.

3. L'évaluation doit prendre en compte les variations géographiques.

La théorie de la coévolution en mosaïque géographique (sensu Thompson, 1999) donne un cadre à cet aspect de l'évaluation. Des environnements plus ou moins éloignés géographiquement peuvent diverger par leurs conditions physiques (température, humidité, etc.) ainsi que par leurs composantes biotiques (les espèces qu'il héberge). Du fait de la sélection naturelle, des populations d'une même espèce, occupant des environnements différents, s'adaptent à leur milieu physique et biotique (compétiteurs, parasites, symbiotes, etc.). Dans le cas des systèmes hôte-parasitoïde agent de lutte, les deux partenaires doivent s'adapter à leur milieu physique et biotique mais aussi à l'évolution de l'autre partenaire. Ainsi on peut retrouver des variations entre des environnements pour les génotypes favorisés chez un partenaire en fonction des distributions des génotypes de l'autre partenaire (Thompson 2005). L'éloignement géographique fait que la coévolution peut prendre des directions différentes dans les différentes localités (Thompson 2005). En d'autres termes, les populations de parasitoïdes agents de lutte biologique et de leurs hôtes partagent une histoire évolutive qui a pu modeler leurs structures génétiques. Ainsi, les populations des deux partenaires peuvent diverger pour différents caractères impliqués dans leur interaction (point 1). Ces *mosaïques géographiques* doivent être prises en compte pour l'évaluation d'agents de lutte biologique.

Cette thèse traitera de ce troisième aspect, même si d'une façon limitée au partenaire parasitoïde. Nous chercherons à explorer la différenciation entre populations du parasitoïde Cotesia plutellae (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) et, par l'interprétation des résultats, à avancer des éléments sur les processus évolutifs qui ont pu la modeler. Sur la base de cette composante géographique, nous chercherons à avancer des éléments pour le développement de protocoles d'évaluation et de gestion des introductions de populations du parasitoïde. Donner des pistes pour l'amélioration de son utilisation dans des programmes de lutte biologique contre la teigne du chou Plutella xylostella (Linnée) (Lepidoptera : Plutellidae) constituera l'objectif appliqué général de ce travail.

Le modèle biologique d'étude

Le modèle *C. plutellae-P. xylostella* est d'importance économique dans de nombreuses régions du monde. L'hôte *P. xylostella* est actuellement une espèce invasive cosmopolite qui pullule dans de nombreuses zones envahies, parfois en absence d'ennemis naturels. Elle représente aujourd'hui le principal problème entomologique pour la culture des Brassicacées qui est à la base de l'économie agricole de nombreux pays, notamment en Asie. Cette famille de plantes compte une surface cultivée de 3 892 857 hectares, dont une grande partie en Chine¹. *P. xylostella* entraîne des coûts annuels de traitements estimés à un milliard de dollars US (Talekar & Shelton 1993, Shelton et al. 1997), dont la majeure partie correspond aux traitements à l'aide d'insecticides de synthèse. Le contrôle des populations de *P. xylostella* reste difficile car il a développé des résistances à tous les pesticides de synthèse utilisés y compris ceux à base de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Cheng 1988, Tabashnik et al. 1990 et 1997, McGaughey & Whalon 1992, Sanchis et al. 1995). L'agriculteur subit des pertes économiques croissantes dues à l'augmentation continue des coûts des traitements (souvent 30 à 50 % du prix de revient de la culture) et à la présence de résidus de pesticides dans les récoltes qui les rend impropres à la commercialisation (Lim 1986, Nakahara et al. 1986). Il est donc nécessaire de trouver des méthodes alternatives permettant de contrôler le niveau des populations de *P. xylostella*. La lutte intégrée a montré des résultats encourageants en combinant l'utilisation de plusieurs pratiques compatibles entre elles et avec l'environnement, telles que l'amélioration génétique des variétés de choux (Eigenbrode et al.

1990, Eigenbrode & Shelton 1992), la culture intercalaire avec des plante-pièges ou des cultures alternatives qui repoussent le ravageur (Chelliah & Srinivasan 1986, Talekar et al. 1986), la rotation des cultures (Talekar & Shelton 1993), la confusion ou le piégeage sexuels (Reddy & Urs 1997), et la lutte biologique à l'aide d'antagonistes. Parmi ces stratégies, la lutte biologique devient de plus en plus utilisée. Elle constitue le moyen de lutte le plus efficace contre les populations de *P. xylostella* résistantes aux insecticides. Actuellement, des microorganismes, des prédateurs et des parasitoïdes sont utilisés (Lim 1992). Parmi eux, *C. plutellae* est le plus répandu. Cet endoparasitoïde larvaire et solitaire est actuellement introduit et réintroduit à travers le monde pour contrôler les populations de son hôte (revu par Guilloux 2000).

Nous avons choisi le modèle *C. plutellae* –*P. xylostella* car il présente un intérêt double dans cette étude :

1. Intérêt fondamental : évolution en mosaïque géographique ?

Les deux partenaires sont cosmopolites, ils ont colonisé des habitats très hétérogènes pour les conditions climatiques ainsi que pour les systèmes de culture. Ils sont présents à la fois dans les régions tropicales et dans les régions tempérées. *P. xylostella* est considéré comme le lépidoptère ayant la répartition géographique la plus étendue et *C. plutellae*, le plus répandu de ses parasitoïdes (Talekar & Shelton 1993). Cela est du à l'extension des cultures de Brassicacées dans le monde, mais aussi aux capacités adaptatives des insectes. Les populations de deux partenaires montrent une variabilité géographique importante :

Pichon (2004) a étudié la variabilité génétique et biologique chez *P. xylostella*. L'auteur a mis en évidence des différences entre populations concernant la taille et la fertilité des insectes. Par ailleurs, son étude à l'aide de marqueurs enzymatiques montre une variabilité génétique importante et suggère que les populations sont isolées géographiquement.

Les populations de *C. plutellae* présentent des variations géographiques très importantes dans leurs aptitudes au contrôle de l'hôte (e.g. Kfir 1997, Waladde et al. 1999, Guilloux et al. 2003, Goudegnon et al. 2004). Bien que ces variations entre populations puissent être l'effet de différences environnementales affectant directement le succès du parasitisme et du contrôle, elles peuvent aussi avoir une base génétique et être le produit de différences au niveau de l'histoire évolutive. Cette hypothèse d'une différentiation génétique pour des caractères d'intérêt écologique est renforcée par la découverte de parasitoïdes

¹ Source FAO, 2002 (<http://www.apps.fao.org>)

morphologiquement très proches de *C. plutellae* sur d'autres hôtes que *P. xylostella* (cité par Delvare 2002). Delvare (2002) a émis l'hypothèse de l'existence d'espèces cryptiques au sein de l'espèce *C. plutellae*. Par ailleurs, Guilloux (2000) a démontré une différenciation isoenzymatique importante entre populations originaires du Bénin, de la Réunion, de l'Afrique du Sud et de Taïwan.

Il est donc possible que les deux espèces soient structurées géographiquement et que des processus de coévolution en mosaïque géographique aient eu lieu.

2. L'intérêt appliqué : gérer les introductions

La gestion des introductions de *C. plutellae* contre le principal ravageur des Brassicacées nécessite des critères scientifiques. Des échecs lors des introductions de ce parasitoïde sont souvent observés (Cock 1985, Waterhouse & Norris 1987, Cordero & Cave 1992, Waterhouse 1992, Chaves et al. 1993, Monnerat 1995). De telles introductions, même infructueuses, peuvent pourtant avoir occasionné des effets indésirables non prévus, liés aux risques environnementaux d'une introduction (invasion) biologique. Des coûts économiques liés aux opérations ont pu aussi avoir été engagés. Ceux-ci doivent être minimisés.

Organisation du manuscrit et objectifs spécifiques de la thèse

Les travaux sont présentés sous la forme d'articles rédigés en anglais ou en français. Le manuscrit comporte cinq chapitres. Le **Chapitre I** présente quelques définitions de termes utilisés en lutte biologique, ainsi qu'une synthèse des facteurs devant être considérés pour le choix d'un agent de lutte biologique efficace et sûr pour l'environnement (l'accent est mis sur les facteurs étudiés au cours de la thèse). Les outils que l'écologie et la biologie de l'évolution proposent pour avancer des réponses à cette problématique sont aussi exposés.

La variabilité entre populations du parasitoïde *C. plutellae* est abordée par des approches diverses. Elle est d'abord étudiée d'un **point de vue taxonomique (Chapitre II)**. Des marqueurs morphométriques et moléculaires sont développés. Dans le cadre du concept biologique d'espèce (CBE), nous étudions l'isolement reproductif entre populations et cherchons, grâce à un modèle statistique, à déterminer sa relation avec les marqueurs de la différenciation. Ces travaux conjoints permettront de discuter sur l'existence de sous-espèces ou espèces cryptiques au sein de l'espèce *C. plutellae*. Le **Chapitre II** comprend deux articles. Un premier explore le statut taxonomique de l'espèce au niveau populationnel. Le second tente, au niveau des individus de mettre en évidence les mécanismes mis en jeu pour l'isolement reproductif entre populations et l'évolution du système (complexe d'espèces ?).

Dans une deuxième partie, la thèse a pour objectif d'étudier la différenciation d'un **point de vue comportemental** (**Chapitre III**, **Chapitre IV** et **Chapitre V**). Les parasitoïdes sont des insectes dont le développement se fait obligatoirement aux dépens d'un autre arthropode-hôte. Chez les parasitoïdes Hyménoptères, le stade adulte consiste essentiellement à la recherche des hôtes pour assurer la descendance. Pour se reproduire, les femelles doivent donc localiser, sélectionner et parasiter les hôtes permettant le développement de leurs descendants. Ainsi, chez les parasitoïdes, la relation entre le comportement des femelles et leur succès reproductif est directe (Godfray 1994, van Alphen et al. 2003). On peut donc s'attendre à ce que chez les parasitoïdes, le comportement soit l'objet de fortes pressions de sélection (van Alphen et al. 2003). La différenciation du comportement reflèterait ces différences de pressions de sélections et devrait être un bon indicateur des directions de l'évolution (Amat 2004). Plusieurs auteurs ont remarqué que le comportement est constitué de caractères très variables phénotypiquement et qu'il est souvent le premier aspect du phénotype à évoluer dans une nouvelle direction (Wcislo 1989, Foster & Endler 1999). D'autre part, l'étude du comportement des parasitoïdes peut reposer sur un cadre théorique important qui permet d'établir des relations entre le comportement individuel et la dynamique des populations au sein d'une communauté. Les systèmes hôte-parasitoïde ont constitué historiquement des modèles de dynamique de populations centrés sur le comportement individuel, ce qui a fait d'eux des modèles de choix en écologie (Nicholson & Bailey 1935).

Ainsi, nous nous sommes intéressés à la comparaison du comportement entre populations de *C. plutellae* ainsi qu'aux causes qui ont pu le modeler. Les caractères comportementaux choisis pour ce travail sont ceux généralement mesurés pour prédire, par modélisation, la dynamique des interactions hôte-parasitoïde : la réponse fonctionnelle, la réponse à l'interférence mutuelle, le déterminisme du sexe-ratio et le déterminisme du superparasitisme. Nous caractérisons le comportement des différentes populations dans les mêmes conditions physiologiques et leur plasticité vis-à-vis des variations environnementales (**Chapitres III, IV et V**). Dans le **Chapitre III**, les populations sont comparées pour leur activité parasitaire en réponse à des variations de la densité d'hôtes (réponse fonctionnelle) et parasitoïdes (réponse à l'interférence mutuelle). Le caractère adaptatif de la plasticité comportementale aux variations de la dynamique populationnelle de l'hôte est étudié par modélisation. Dans le **Chapitre IV**, nous comparons le déterminisme du sexe-ratio et dans le **Chapitre V**, nous comparons le comportement de superparasitisme.

Notre étude suggère l'existence d'*écotypes comportementaux* parmi les populations de *C. plutellae*. Cependant, les environnements dans lesquels ils ont évolué n'ont pas été caractérisés avec précision. L'existence potentielle de ces écotypes ne constitue donc pas une démonstration que la différenciation soit le résultat de la sélection naturelle. Nos comparaisons nous ont permis d'avoir des pistes sur les causes de la différenciation mais nos hypothèses doivent être testées à l'aide d'autres méthodes. La discussion finale traite de ce sujet et replace l'ensemble des résultats dans une perspective évolutive et écologique. Enfin, les perspectives de recherche pouvant être développées à la suite de ce travail sont présentées.

Chapitre I

La lutte biologique : généralités et apports de
l'écologie et de la biologie évolutive

La lutte biologique : généralités et apports de l'écologie et de la biologie évolutive

1. La lutte biologique : quelques définitions

La lutte biologique est définie comme la suppression, le contrôle ou la régulation des populations de ravageurs à l'aide de prédateurs, parasitoïdes, pathogènes et/ou herbivores (De Bach & Rossen 1991, Hawkins & Cornell 1999). Les opérations de lutte biologique réussies ont apporté des résultats significatifs pour l'agriculture et l'économie (De Bach & Rossen 1991, Mills & Gutierrez 1999). Cependant des estimations concernant le contrôle d'arthropodes indiquent que seulement 34% des introductions ont aboutit à l'installation de l'agent de lutte biologique et seulement 47% d'entre elles ont réduit les populations de nuisibles (Hall & Ehler 1979). Lynch et al. (2000) ont estimé à seulement 3% le taux de succès des introductions. Le contrôle biologique de plantes adventices connaît de meilleurs taux d'installation, mais un résultat similaire concernant le contrôle (revu par Roderick & Navajas 2003). L'échec de nombreuses introductions peut être en partie dû à la difficulté de prédiction des résultats potentiels des introductions. Historiquement, la plupart des opérations de lutte biologique ont, en effet, fonctionné par "essai-erreur". Les critères de recherche et de sélection des agents sont restés très empiriques. Parmi ces critères on peut citer celui qui prévoit qu'un agent de lutte biologique qui contrôle moins de 30 % de la population de son hôte dans la zone de provenance n'aura qu'un succès limité voir échouera dans la zone d'introduction (Hawkins & Cornell 1999).

Plusieurs variables peuvent être utilisées pour estimer le succès d'une opération de lutte biologique. (i) Du point de vue du contrôle, une opération de lutte biologique est considérée comme un succès lorsqu'elle aboutit à l'éradication locale ou régionale du ravageur ou lorsqu'elle réduit la population du ravageur jusqu'à un niveau provocant son extinction par des processus stochastiques. (ii) Du point de vue de l'agent de lutte biologique, une opération de lutte biologique est considérée comme un succès lorsque elle aboutit à son établissement. La notion de **seuil économique de nuisibilité** a permis de proposer un critère intermédiaire par rapport à ces deux extrêmes. Il considère qu'une opération de lutte biologique est efficace lorsqu'elle aboutit à la réduction de la population du ravageur de façon stable, au dessous d'un niveau auquel le coût de l'opération de contrôle est compensé par l'amélioration du rendement

qui s'en suit. Une opération de lutte biologique peut donc ne pas conduire à l'éradication du ravageur ou à la colonisation permanente de l'agent et être efficace en termes de contrôle.

Cette notion de seuil économique fait partie des concepts qui cadrent les **programmes de lutte intégrée (Integrated Pest Management, IPM)** contre les ravageurs. Ces programmes de lutte se basent sur l'écologie et la biologie des ravageurs et des agents de lutte biologique, au sein d'un système agricole particulier. Les pratiques de contrôle s'inscrivant dans ces programmes, doivent être réalisées uniquement pour maintenir les populations du ravageur au dessous du seuil économique de nuisibilité (aussi connu comme "seuil d'action"). Des suivis périodiques des populations du ravageur et éventuellement des agents de lutte biologique s'avèrent nécessaires. Les programmes d'IPM intègrent plusieurs pratiques compatibles entre elles et avec l'environnement. Leur développement s'est accru de façon croissante suite à la dégradation du contrôle chimique qui pendant plusieurs décennies a été la méthode de contrôle la plus répandue. La lutte biologique prend une place fondamentale dans les programmes de lutte intégrée.

Des avantages pratiques ont été attribués à la lutte biologique par rapport à la lutte chimique : (i) les agents de lutte biologique n'ont pas d'effets phytotoxiques, ils n'ont pas, ou peu d'effets nocifs pour la santé humaine (après l'application d'un traitement de lutte biologique, les cultures restent accessibles aux personnels qui y travaillent). (ii) Les applications d'agents de lutte biologique sont plus simples et le travail est moins pénible. (iii) La lutte biologique est appréciée par le public en général ce qui constitue un avantage pour la commercialisation des produits des cultures qui peuvent prétendre à des labels valorisables en termes de prix.

Néanmoins, l'avantage principal de la lutte biologique par rapport à la lutte chimique est qu'elle peut représenter une alternative à la pérennité des traitements. Les cas d'évolution de résistance des ravageurs aux traitements de lutte biologique restent rares (voir le cas de la myxomatose des lapins, Fenner 1983) et concernent particulièrement les pathogènes utilisés comme biopesticides et non pas les prédateurs ou les parasitoïdes (Holt & Hochberg 1997). Le seul cas, à ma connaissance, qui suggère l'évolution génétique d'une résistance à un parasitoïde agent de lutte biologique est reporté par Berberet et al. (2003). Les auteurs ont montré que le taux de réaction d'encapsulation chez *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae) du parasitoïde *Bathyplectes curculionis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) a évolué avec les temps.

Si les molécules utilisées en lutte chimique et les agents de lutte biologique représentent des pressions de sélection fortes pour les ravageurs, pourquoi l'apparition de résistance à la lutte biologique reste-t-elle exceptionnelle ? Holt & Hochberg (1997) proposent des hypothèses pour expliquer cette situation : (i) la résistance vis-à-vis des agents de lutte biologique est plus couteuse physiologiquement que celle vis-à-vis des molécules insecticides chimiques, (ii) les agents biologiques, à différence des molécules utilisées en lutte chimique, sont capables d'évoluer par sélection naturelle et de contourner les éventuelles résistances développées par le ravageur, (iii) l'hétérogénéité spatiale et temporelle des interactions réduit, pour un même niveau de contrôle moyen, la pression de sélection exercée par les agents de lutte biologique (voir Holt et al. 1999).

1.1. Méthodes d'application des agents de lutte biologique

Deux types d'application d'agents de lutte biologique se pratiquent : les lâchers **inoculatifs** et les lâchers **inondatifs**. Le premier type d'application a pour objectif de "construire" une population résidente de l'agent de lutte, susceptible de contrôler la population hôte durant un ou plusieurs cycles de culture. Cette méthode d'application est aussi utilisée lors des introductions en lutte biologique classique (voir plus loin). L'objectif est alors d'établir de façon permanente l'agent de lutte biologique dans la zone d'introduction et de contrôler la population du ravageur à long terme. Les agents de lutte biologique les plus communs concernés par ce type d'application, sont l'acarien prédateur *Phytoseiulus persimilis* et le parasitoïde de la mouche blanche *Encarsia formosa* (Hymenoptera : Aphelinidae) (van Lenteren 2003).

Les lâchers inondatifs se réalisent par épandage à la manière d'un biopesticide. Les quantités d'individus introduites sont plus importantes que dans les lâchers inoculatifs et leur application est plus fréquente. Leur objectif est la réduction immédiate de la population du ravageur et les effets sur le long terme ne sont pas considérés. A la différence des lâchers inoculatifs, la reproduction des agents de lutte biologique sur le terrain n'est pas importante lors des lâchers inondatifs. Cette méthode présente un intérêt particulier lorsque l'installation de l'agent de lutte biologique n'est pas possible, lorsque le seuil économique du ravageur est très bas ou lorsque la population du ravageur est univoltine (i.e. une seule génération du ravageur par cycle de culture), ce qui entraîne des problèmes de concordance phénologique. L'exemple de lâcher inondatif le plus connu est l'utilisation des parasitoïdes du genre *Trichogramma* spp. (Hymenoptera : Trichogrammatidae) pour contrôler les populations de

plusieurs espèces de lépidoptères ravageurs.

1.2. Modalités de lutte biologique

Les organismes utilisés en lutte biologique peuvent être indigènes ou exotiques. Les opérations de lutte biologique sont classées en différents types. Classiquement les agents de lutte sont recherchés dans la zone d'origine du ravageur pour être introduits dans sa zone d'invasion récente. D'autres pratiques visent à la conservation des agents endémiques et leur augmentation *in situ*. Ces pratiques ne sont pas exclusives et les programmes de lutte biologique les combinent souvent de façon complémentaire. Ainsi, les agents de lutte biologique exotiques peuvent, suite à leur introduction, bénéficier d'opérations visant à leur conservation et/ou à leur augmentation.

1.2.1. Lutte biologique par conservation

Cette méthode de lutte biologique a pour objectif de favoriser le maintien des populations d'ennemis naturels en améliorant la qualité de leur environnement. Ces pratiques comprennent la mise à disposition de ressources alternatives, différents de l'hôte, telles que des produits de plantes ou des solutions sucrées (Chang & Kareiva 1999), la constitution ou l'entretien de sites de refuge constitués en général de plantes sauvages, adventices ou périphériques, qui leur servent aussi de sources de nourriture. La réduction de l'utilisation d'insecticides contre le ravageur est aussi une pratique de conservation vis-à-vis des agents de lutte biologique.

1.2.2. Lutte biologique par augmentation

La lutte biologique par augmentation est l'ensemble des pratiques destinées à augmenter la densité de populations d'agents de lutte biologique. Dans les serres de zones tempérées, par exemple, les populations d'antagonistes subissent des baisses brutales d'effectifs à chaque hiver et doivent être augmentées à chaque saison. La pratique la plus courante est l'élevage d'agents de lutte biologique et leur lâcher ultérieur. Lors des dernières 30 années, le nombre d'éleveurs a considérablement augmenté dans l'ex-Union Soviétique, la Chine, en Europe occidentale et en Amérique (du nord et du sud). Cependant la commercialisation d'ennemis naturels reste toujours un marché émergent. Les coûts de production pour ces lâchers inondatifs pourront à l'avenir concurrencer de plus en plus ceux de la lutte chimique qui devra faire face au phénomène d'augmentation des résistances.

Remarquons que les pratiques de conservation qui visent à préserver l'habitat des ennemis naturels peuvent également contribuer à l'augmentation des populations et être alors considérées comme des pratiques de lutte biologique d'augmentation.

1.2.3. Lutte biologique classique

La lutte biologique classique contre les espèces de nuisibles invasifs consiste en l'introduction d'ennemis naturels provenant de la zone d'origine de l'espèce invasive. Elle se base sur l'hypothèse que le succès écologique des espèces invasives est en partie due à l'absence d'ennemis naturels dans la zone d'invasion (i.e. *enemy release hypothesis*, Keane & Crawley 2002). Les ennemis naturels sont recherchés prioritairement dans la zone d'origine du ravageur (si connue) en se basant sur l'hypothèse que dans cette zone se trouvent les ennemis naturels les plus spécifiques et efficaces contre l'espèce nuisible (du fait de leur histoire évolutive commune, Ebert 1994 et 1998, mais voir Kniskern & Rausher 2001). Le succès avéré de certaines introductions d'agents de lutte biologique semble supporter ces hypothèses. Ce type de lutte biologique a effectivement enregistré de grands succès à la fin du XX^{ème} siècle (Hoy 1994, Luckmann & Metcalf 1994). La plupart des efforts de lutte biologique se sont concentrés sur ce type d'opérations. Actuellement, des espèces utilisées comme agents de lutte biologique sont introduites ou réintroduites à travers le monde entier, en général pour protéger des cultures qui sont attaquées par une seule ou quelques espèces de ravageurs (Van Lenteren 2000). Cette pratique est souvent stimulée par des politiques internationales visant à réduire les applications de pesticides chimiques et aussi plus directement par son efficacité économique avérée. Actuellement, plus de 125 espèces d'agents de lutte biologique sont commercialisées à travers le monde. Une fois l'espèce d'agent de lutte introduite, le contrôle est souvent renforcé par des mesures visant à leur conservation et par des méthodes d'augmentation.

2. La gestion des introductions d'agents de lutte biologique (classique)

Il est reconnu actuellement qu'une grande partie des introductions d'agents de lutte biologique n'aboutit pas au contrôle efficace les populations de ravageurs (Hall & Ehler 1979, Lynch et al. 2001, voir aussi Roderick & Navajas 2003). En outre, les introductions d'agents de lutte biologique peuvent affecter la distribution et l'abondance de certaines populations des communautés naturelles indigènes non ciblées par la lutte biologique, voire leur extinction (i.e. risques environnementaux, Simberloff & Stiling 1996, Wajnberg et al. 2000, Louda et al.

2003, van Lenteren et al. 2006). Ces effets indirects de la lutte biologique sur les communautés indigènes ont pu être sous-estimés (Wajnberg et al. 2000, Louda et al. 2003). En tout état de cause, ces introductions se réalisent souvent sans les bases scientifiques nécessaires. Nous n'avons pas encore établi un corpus de connaissances suffisant pour la compréhension des facteurs mis en jeu pour le succès des opérations de lutte biologique classique et pour la maîtrise de leurs effets collatéraux (Roderick & Navajas 2003).

Néanmoins, les bases scientifiques de l'utilisation des méthodes de lutte biologique ont progressé. La caractérisation d'opérations réussies à l'aide de modèles écologiques de plus en plus complexes qui tentent d'approcher la réalité des systèmes a été le moyen d'avancer dans le développement de ces bases scientifiques. Le développement des outils statistiques a également permis ce type d'approches plus complexes et proches de la réalité. Le cadre théorique et mathématique de la lutte biologique a aussi permis cet avancement, synthétisé dans l'ouvrage de Hawkins & Cornell (1999).

Cette partie du manuscrit présentera une synthèse bibliographique sur quelques facteurs mis en jeu pour la discussion concernant le choix d'un agent de lutte biologique efficace et sûr pour l'environnement. Des apports de la biologie et l'écologie évolutives à cette discussion seront aussi présentés. Le choix de ces facteurs a été fait en fonction des objectifs de la thèse. L'accent sera mis sur la gestion des parasitoïdes.

2.1. Le statut taxonomique de populations de ravageurs et d'agents de lutte biologique

L'identification taxonomique des ravageurs et des agents de lutte potentiels constitue le premier pas dans la mise en marche d'un programme de lutte biologique classique. Des erreurs d'identification des espèces d'agents de lutte biologique ont conduit à des échecs lors des introductions. A titre d'exemple, des parasitoïdes s'attaquant au genre *Chrysomphalus* spp. (Hemiptera : Diaspididae) ont été introduits en Amérique du Nord pour contrôler *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera : Diaspididae), qui était considérée comme appartenant au même genre. L'opération a échoué car les parasitoïdes ne s'attaquaient pas à l'espèce cible. Des recherches ultérieures ont montré une erreur d'identification des espèces hôte à partir de laquelle ils avaient été découverts. De la même manière, une mauvaise identification de *Planococcus kenyae* (LePelley) (Hemiptera : Pseudococcidae), au Kenya, a conduit à une recherche infructueuse d'ennemis naturels, jusqu'à ce que l'on réalise que l'espèce cible était nouvelle et n'avait jamais été décrite. De même, la confusion entre *Pseudococcus citriculus*

Green (Hemiptera : Pseudococcidae), ravageur des agrumes en Israël, et une espèce proche, *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) (Hemiptera : Pseudococcidae) a conduit à la recherche d'ennemis naturels en dehors du Japon, la zone d'origine du ravageur².

La taxonomie traditionnelle basée sur l'identification de caractères morphologiques clés présente certains inconvénients de type pratique : le coût des identifications est élevé et la formation de spécialistes prend du temps et se raréfie. De plus, la taxonomie traditionnelle ne permet pas toujours d'accéder à certaines informations importantes en la lutte biologique tels que :

- **L'isolement reproductif au sein des espèces utilisées en lutte biologique**

Le concept biologique d'espèce (CBE) (Dobzhansky 1937, Mayr 1942) intègre la notion de barrières au flux de gènes entre les entités taxonomiques comme critère de spéciation. Ainsi, il définit les espèces comme des systèmes de populations dont l'échange de gènes est réduit ou évité en sympatrie, par des mécanismes biologiques. Des espèces cryptiques ou jumelles qui sont similaires, voire identiques, morphologiquement mais incompatibles pour la reproduction, peuvent exister au sein des espèces utilisées en lutte biologique. On peut citer, par exemple, le complexe *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera : Trichogrammatidae) (Stouthamer et al. 2000, Pinto et al. 2003), des populations de *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera : Braconidae) (Heimpel et al. 1997), des populations de *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera : Aphelinidae) (Giorgini & Baldanza 2004), le complexe *Aphelinus varipes* (Hymenoptera : Aphelinidae) (Chen et al. 2001) ainsi que de nombreux autres exemples (Wu et al. 2004, Vickerman et al. 2004). Or, une étude théorique a montré que le lâcher d'une population incompatible reproductivement dans l'habitat d'une autre peut induire une dépression durable du taux d'accroissement de la population locale (Stouthamer et al. 2000). D'autres facteurs d'isolement reproductif tels que l'infection par *Wolbachia*, peuvent avoir en théorie un effet temporaire sur le taux de croissance des populations (Mochiah et al. 2002).

- **La différenciation écologique au sein des espèces utilisées en lutte biologique**

Pour traiter des questions d'isolement reproductif et de spéciation, Templeton (1989) a introduit le concept d'espèce cohésive. Pour appartenir à la même espèce, des individus

² Source: www.cnr.berkeley.edu/biocon

doivent partager plusieurs types de caractères de nature différente, liés à la niche écologique, au pool génétique et/ou à la compatibilité. Des critères biologiques et écologiques tels que l'habitat, la spécificité, la réponse à des facteurs climatiques peuvent aussi être utilisés pour distinguer des statuts d'espèces, de sous-espèces ou de populations (revu par Templeton 1998 et Bock 2004). La nature des catégories taxonomiques définies en fonction de concepts écologiques (i.e. des espèces cryptiques, des biotypes, des races d'hôte et des populations) est l'objet d'un long débat que nous ne discuterons pas ici. Néanmoins, des différences écologiques au sein des espèces d'agents de lutte biologique et des ravageurs, pouvant influencer le succès des opérations, ont été reportées. Mochiah et al. (2001) ont montré des différences entre populations de *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera : Braconidae) pour leur capacité à se développer sur plusieurs hôtes présents en sympatrie. Fumanal et al. (2004) ont montré des différences pour l'acceptation de la plante hôte, entre populations de *Ceutorhynchus assimilis* (Paykull) (Coleoptera : Curculionidae), agent de lutte biologique contre la plante adventice *Lepidium draba* (Brassicacées). En ce qui concerne les ravageurs, à titre d'exemple, Hufbauer & Via (1999) ont montré des différences entre populations du puceron *Acyrthosiphon pisum* Harris (Hemiptera : Aphididae) pour leur résistance vis-à-vis du parasitoïde *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera : Braconidae).

2.2. La spécificité des agents de lutte biologique

La spécificité est souvent citée comme un des critères de sélection d'agents de lutte biologique (Hoy 1994). Les agents de lutte biologique spécifiques sont considérés comme plus sûrs pour une introduction car engendrant des effets non intentionnels moindres sur d'autres espèces de la communauté. Ils sont considérés comme plus efficaces car, du fait de leur coévolution avec l'hôte, ils sont supposés être plus performants pour rechercher et tuer leur hôte ainsi que pour profiter des ressources fournies par l'hôte en termes de croissance et de reproduction (Ebert 1994 et 1998, Hufbauer & Roderick 2005, mais voir Kniskern & Rausher 2001). La conclusion de la plupart des études renforce l'hypothèse qu'un agent de lutte biologique efficace et sûr doit être spécifique (revu par Louda et al. 2003). Cependant, une grande partie des succès en lutte biologique a été réalisée à l'aide d'organismes dits généralistes comme c'est le cas des parasitoïdes du genre *Trichogramma* ssp. (Smith 1996). Stiling & Cornelissen (2005) ont réalisé une méta-analyse sur 94 agents de lutte biologique étudiés durant les 10 dernières années, dont 39 % spécialistes (la plupart des parasitoïdes n'appartenant pas au genre *Trichogramma* ssp.) et 61% généralistes (la plupart des prédateurs et des nématodes). Leur étude montre que les agents de lutte généralistes tendent à être plus

efficaces que les spécialistes.

Cependant, la classification des espèces pour leur spectre d'hôte (i.e. spécialistes, généralistes et oligophages, entre les deux) est souvent ambiguë. Il existe souvent des différences entre le spectre d'hôte potentiel et réalisé, c'est-à-dire entre les espèces qui pourraient éventuellement être attaquées et celles qui le sont réellement. De nombreuses sources d'erreur peuvent confondre les spectres d'hôte, c'est le cas entre autres, des variations des conditions environnementales, de la synchronie phénologique entre l'agent de lutte et le ravageur, des capacités de dispersion et de la préférence d'habitat, (Louda et al. 2003). La mauvaise identification des espèces non cibles dans la zone d'introduction peut aussi être source d'erreurs dans l'évaluation des effets indirects. Plusieurs auteurs s'accordent en effet sur l'importance de définir les spécificités des agents de lutte biologique vis-à-vis de taxons apparentés à l'espèce de ravageur cible (Futuyma et al. 1995, Kopf et al. 1998, Briese 2003). Le spectre d'hôte d'un agent de lutte biologique reste souvent limité à un ou quelques genres au sein d'une famille d'hôtes. Des espèces natives très proches taxonomiquement de l'espèce cible seront probablement les plus affectées (Louda et al. 2003). Dans l'avenir, l'outil moléculaire, qui devient de plus en plus accessible, aidera certainement à améliorer ces aspects taxonomiques.

Le rôle de la spécificité des agents en lutte biologique a été l'objet d'une longue discussion au sein des communautés de scientifiques et pratiquants de la lutte biologique. Chang et Kareiva (1999) ont revisité ce débat et concluent que les agents de lutte biologique généralistes indigènes représentent une alternative complémentaire aux spécialistes exotiques pour la prévention contre l'explosion démographique des populations de ravageurs. En effet, les agents de lutte biologique généralistes peuvent profiter d'autres sources de nourriture que le ravageur, et ainsi se maintenir dans des périodes où les densités de ravageur sont faibles voire nulles. Des hôtes autres que le ravageur leur permettent de se maintenir dans le milieu sauvage, notamment hors saison de culture (Khan et al. 1997, Polaszek 1998). De ce fait, leur action peut être plus précoce que celle des agents spécialistes. Dans ce sens, l'action des agents de lutte généralistes et spécifiques pourraient être complémentaires, et contribuer toutes deux au contrôle des ravageurs. Les généralistes seraient utilisés en prévention et les spécialistes, en "traitement d'urgence" (Chang et Kareiva 1999). Au cours du siècle dernier, les pratiques n'ont pas favorisé ces stratégies de prévention à l'aide de généralistes locaux pouvant contrôler l'espèce invasive. Les introductions d'agents de lutte spécialistes ont

constitué la pratique de lutte biologique la plus courante (depuis 1888, plus de 5000 introductions ont été reportées, Louda et al. 2003) peut-être au détriment des autres formes de lutte biologique (conservation et augmentation). Cette situation pourrait évoluer avec la prise de conscience des risques liés aux introductions biologiques (Simberloff & Stiling 1996, Vitousek et al. 1996, Wajnberg et al. 2000, Louda et al. 2003). Les introductions d'espèces exotiques, pouvant devenir des espèces invasives et affecter la biodiversité native, seront de plus en plus limitées. Des études sur l'importance de la conservation et l'augmentation d'ennemis naturels indigènes pour la gestion de ravageurs seront certainement favorisées dans l'avenir.

2.3. Microorganismes associés aux agents de lutte biologique

Grâce au développement des outils moléculaires, il a été montré que la présence de microorganismes symbiontes est très répandue chez les arthropodes et leur diversité très importante. Leurs effets sur le phénotype de l'hôte sont aussi très divers (voir O'Neill et al. 1997). Ces microorganismes sont souvent associés aux agents de lutte biologique. Les parasitoïdes Hyménoptères, parmi lesquels de nombreux agents de lutte biologique contre les arthropodes ravageurs de cultures, semblent particulièrement concernés. La découverte de ces associations est relativement récente et leurs effets sur la lutte biologique sont encore mal connus.

2.3.1. Microorganismes associées à la reproduction des agents de lutte biologique

Parmi ces microorganismes, les bactéries symbiotiques rickettsies du genre *Wolbachia* (Werren 1997) sont actuellement les mieux connues. Quelques infections apparaissent comme asymptomatiques (Giordano et al. 1995, Hoffman et al. 1996), d'autres affectent la reproduction de leurs hôtes, en induisant des phénotypes variés : parthénogénèse, féminisation ou mortalité des mâles et incompatibilité cytoplasmique (IC). Pour tous ces phénotypes, la bactérie héritée maternellement, assure sa dispersion en augmentant la proportion de femelles infectées (Stouthamer et al. 1999).

- Incompatibilité cytoplasmique induite par *Wolbachia***

Cet effet a été bien étudié sur quelques insectes, tels que *Culex pipiens* (Linné) (Diptera : Culicoidea) (Rousset et al. 1991, Guillemaud et al. 1997), *Drosophila* spp. (Diptera : Drosophilidae) (Hofmann et al. 1986, Hoffmann & Turelli 1988, Rousset & Solignac 1995,

Hoffmann et al. 1996) et chez *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera : Pteromalidae) (Perrot-Minnot et al. 1996, Bordenstein et al. 2001).

L'IC occasionnée par *Wolbachia* n'affecte que les croisements entre femelles non-infectées et mâles infectés. Le mécanisme de l'IC a été assimilé à un système de "modification-récupération" où *Wolbachia* modifie le sperme des mâles infectés. Cette modification peut être restaurée par la présence de la même souche de la bactérie chez la femelle, permettant le développement normal des zygotes. L'IC se met en place lorsque la modification induite dans le sperme ne peut pas être restaurée par la femelle, soit à cause d'une absence d'infection, soit à cause de la présence d'une autre souche bactérienne (Hoffmann & Turelli 1997, Werren 1997). *Wolbachia* est transmise verticalement par le cytoplasme de l'œuf. La transmission *via* le père n'a été observée qu'en condition confinée, au laboratoire (Turelli et al. 1992, Hofmann & Turelli 1997). Des transmissions horizontales ont été suggérées par plusieurs auteurs, particulièrement *via* les interactions hôte-parasitoïde et prédateur-proie (Breeuwer & Jacobs 1996, Werren et al. 1995, Noda et al. 2001). Ce mode de transmission reste exceptionnel à l'échelle de la population (écologique), mais semble fréquent à l'échelle de l'espèce (évolutive), comme le suggèrent les fortes incongruences observées entre les phylogénies des deux partenaires.

- **Parthénogénèse induite par *Wolbachia***

Dans la plupart des espèces du règne animal, les mâles comme les femelles réalisent l'essentiel de leur cycle de vie à l'état diploïde. La phase de rencontre des deux gamètes haploïdes est nécessaire à leur développement. Pour les espèces haplodiploïdes (la plupart des parasitoïdes hyménoptères), leur mode de reproduction utilise à la fois la parthénogénèse et la reproduction sexuée : les mâles se développent à partir d'œufs non fertilisés haploïdes et les femelles à partir d'œufs fertilisés diploïdes. Ce système est connu sous le nom de parthénogénèse arrhénotoque. Deux autres types de reproduction purement parthénogénétiques (toute la descendance est produite à partir d'œufs non fertilisés) sont aussi possibles chez certaines espèces. C'est le cas de la deutérotoquie et la thélytoquie. Pour la deutérotoquie, les deux sexes sont produits, alors que pour la thélytoquie, seulement des femelles sont produites.

La reproduction thélytoque chez les espèces haplodiploïdes est parfois induite par l'infection par *Wolbachia* (Parthenogenic Induced *Wolbachia*, PI-*Wolbachia*) (Stouthamer et

al. 1990, Stouthamer & Kazmer 1994, Rousset et al. 1992). La PI-*Wolbachia* a été registrée principalement dans les familles de l'ordre Hyménoptera : Encyrtidae, Aphelinidae, Eucoilidae, Pteromalidae et Trichogrammatidae (voir Hunter 1999), mais aussi dans d'autres ordres tels que Coléoptera (Werren et al. 1995), Thysanoptera (Arakaki et al. 2001) et chez les acariens du genre *Bryobia* spp. (Weeks & Breeuwer 2001).

Les individus infectés peuvent être curés à l'aide de traitements thermiques (i.e. hautes températures) ou antibiotiques (Stouthamer et al. 1990), lesquels restaurent la production de mâles. Néanmoins, dans certains cas, ces mâles ne sont pas fonctionnels sexuellement (Zchori-Fein et al. 1992, 1995, Gottlieb & Zchori-Fein 2001), ou les femelles n'ont plus la capacité de se reproduire sexuellement (Pijs et al. 1996, Arakaki et al. 2001). La reproduction sexuée n'a pu être rétablie après traitement que pour des espèces de la famille Trichogrammatidae (Stouthamer et al. 1990).

Stouthamer et Kazmer (1994) ont étudié le mécanisme de la PI-*Wolbachia* chez les trichogrammes. La méiose des œufs infectés commence normalement, mais l'anaphase de première division est interrompue et les deux jeux de chromosomes restent dans le même nucléus, donnant naissance à un œuf diploïde (i.e. femelle) complètement homozygote. Gottlieb et al. (2002) ont montré le même mécanisme de duplication des gamètes suite à une méiose avortée chez le Pteromalidae *Muscidifurax uniraptor*.

- **Féminisation induite par *Wolbachia* et d'autres éléments**

Les infections féminisantes sont induites par des agents hérités maternellement. Leur présence réoriente le développement des œufs génétiquement mâles en femelle (Rigaud 1997, Bouchon et al. 1998). L'effet féminisant est bien connu particulièrement chez le cloporte *Armadillidium vulgare*. Chez cet isopode, les mâles génétiques (sexu homogamétique, ZZ) infectés sont transformés en femelles phénotypiques (ZZ + Wo, appelées neo-femelles) (Rigaud 1997). L'avantage en termes de valeur sélective des éléments féminisants est similaire à celle de PI *Wolbachia*, en augmentant la proportion de femelles, ces éléments augmentent leur prévalence au sein des populations. Cependant, à la différence des PI *Wolbachia*, leur fixation conduirait à l'extinction de la population, les femelles ayant toujours besoin de mâles pour se reproduire. La féminisation de mâles génétiques par *Wolbachia* n'a pas été reportée chez les insectes. Cependant, d'autres facteurs tels que les MSR (*maternal sex ratio*) mis en évidence chez *Nasonia vitripennis*, sont connus pour induire les femelles à

fertiliser environ 95 % de leurs œufs et augmenter ainsi la proportion de femelles dans leur descendance. Ces éléments féminisants entraînent des biais du sexe ratio dans les populations qui pourraient potentiellement avoir des effets importants pour la lutte biologique (voir chapitre IV). Ils semblent néanmoins rares chez les agents de lutte biologique autre que *N. vitripennis*.

- **Infections létales chez les mâles (*male killing*)**

Certains agents infectieux cytoplasmiques, très répandus chez les insectes, provoquent la mort des mâles, tout en restant asymptomatiques pour les femelles (Rousset et al. 1992, Hurst & Majerus 1993). La prévalence de ces infections au sein des populations est encore mal connue, faible chez certaines espèces (Ebbert, 1993 Hurst & Jiggins 2000) mais importante chez d'autres (Jiggins et al. 2000b, 2002). La diversité des agents infectieux létaux pour les mâles est relativement importante et comprend des bactéries et des spiroplasmes. *Wolbachia* fait partie des bactéries connues pour induire cet effet. Ces agents manipulent la reproduction de leurs hôtes pour augmenter leur valeur sélective. La mort des mâles bénéficie aux femelles car elle diminue le nombre de compétiteurs pour les ressources (e.g. lors du superparasitisme). Les effets de ces éléments peuvent modifier la dynamique des populations (Werren 1997) et la structure d'accouplements des agents de lutte biologique, et éventuellement avoir des conséquences sur le niveau de contrôle.

2.3.2. Microorganismes viraux associés au succès parasitaire des endoparasitoïdes agents de lutte biologique

Pour se défendre des endoparasitoïdes agents de lutte biologique, les insectes hôtes ont développé des mécanismes de défense complexes. Parmi eux, la réponse immunitaire cellulaire par encapsulation. Elle consiste en l'isolement et la destruction des corps intrus (trop gros pour être phagocytés) via le recrutement et l'agglomération d'hémocytes, dans des capsules parfois mélanisées. En retour, les endoparasitoïdes, dont de nombreuses espèces utilisées en lutte biologique, ont développé des mécanismes très diversifiés pour contourner les défenses de l'hôte (Salt 1968). Parmi ceux-ci, nous pouvons citer des mécanismes d'évasion comprenant le camouflage dans les tissus de l'hôte (Eslin & Prévost 2000) ou dans la membrane polyembryonnaire (Corley & Strand 2003), le mimétisme des molécules hôte à la surface de l'œuf et des petites larves (Asgari & Schmidt 1994), l'inactivation active du système immunitaire et la régulation physiologique de l'hôte parasité à l'aide de venins (Zhang et al. 2006). Des associations avec des entités virales symbiotiques sont aussi utilisées

(Shelby & Webb 1999). Elles représentent les seuls exemples de symbiose entre un organisme eucaryote et un virus et permettent à l'association de manipuler la physiologie d'un tiers eucaryote, l'hôte du parasitoïde (au bénéfice du parasitoïde et du virus) (Shelby & Webb 1999, Webb et al. 2006). Ces entités virales exportent des gènes vers l'intérieur de la larve hôte pour y être exprimés comme protéines impliquées dans l'altération du système immunitaire. Parmi ces systèmes, le mieux connu est celui des polydnavirus (Shelby & Webb 1999).

Les polydnavirus sont des virus à ADN double brin organisés en segments circulaires qui varient fortement en taille, même au sein d'un même hôte (Webb 1998). Ces virus sont présents chez certaines sous-familles des familles Braconidae et Ichneumonidae (Whitfield 2002) et sont nécessaires à leur succès parasitaire (Beckage 1998). Aucun effet délétère sur les parasitoïdes n'a été reporté. Ces virus sont très atypiques car transmis uniquement par les chromosomes de l'hôte, par voie verticale donc *via* la reproduction du parasitoïde (Stoltz, 1993). Les femelles parasitoïdes produisent des virions dans leurs ovaires qui sont injectés dans la larve hôte lors du parasitisme (Turnbull & Webb 2002). Les gènes viraux ayant une fonction physiologique dans l'hôte du parasitoïde s'y expriment mais ne s'y répliquent pas. Quelques évidences montrent que certains gènes de structure du virus ne sont pas encapsidés dans les virions. Ils ne sont présents que sous une forme intégrée au génome du parasitoïde et s'expriment dans le parasitoïde lors de la virogenèse (Webb 1998). Réciproquement, les séquençages récents de génomes de polydnavirus suggèrent que le virus a incorporé des gènes originaires du parasitoïde (Webb et al. 2006). En particulier, le séquençage chez *Cotesia congregata* a montré que ces virus possèdent un génome avec de nombreuses séquences non codantes (Espagne et al. 2004), les séquences codantes étant en général impliquées dans la régulation physiologique de l'hôte lors du parasitisme. Dans tous les cas, les polydnavirus assurent la suppression du système immunitaire de l'hôte (Vinson 1990; Webb 1998).

Des études des gènes viraux chez *Cotesia sesamiae* ont montré l'existence de deux allèles associés à la virulence des parasitoïdes. Un premier allèle présent dans les populations des côtes du Kenya, appelé *Coast* et un deuxième, chez les populations de l'intérieur du pays, appelé *Inland*. Le deuxième allèle est présent dans les souches de parasitoïdes capables de contourner la réaction immunitaire de l'hôte *Busseola fusca* (Dupas et Gitau, non publié). L'allèle virulent *Inland* est plus fréquent dans les zones où *B. fusca* est abondant, et l'allèle avirulent *Coast* dans les zones où d'autres espèces, incapables d'encapsuler le parasitoïde,

sont plus abondantes. Un phénomène de sélection en mosaïque géographique (Thompson & Cunningham 2002, Dupas et al. 2003, Thompson 2005) explique donc la distribution géographique des génotypes.

2.3.3. Microorganismes et lutte biologique

L'importance des associations des microorganismes aux réseaux complexes entre parasitoïdes, insectes hôtes et plantes devient de plus en plus évidente pour la recherche fondamentale ainsi que pour la recherche appliquée, notamment en lutte biologique. Les effets de ces associations en lutte biologique peuvent être divers et prendre une importance considérable pour la gestion des introductions. Nous considérons ci-dessous quelques éléments de réflexion sur ces relations entre lutte biologique et microorganismes associés:

L'incompatibilité cytoplasmique entre populations d'agents de lutte biologique

Réduction du taux de croissance des populations et du taux de contrôle.

L'introduction de populations dont le statut d'infection diffère de celui des populations locales peut avoir des effets négatifs sur le taux de croissance des populations. Si l'IC entre les populations introduite (s) et indigène (s) est unidirectionnelle, l'introduction pourrait réduire le taux de croissance de la population introduite et le taux de contrôle de l'hôte (Mochiach et al. 2002). Si l'IC entre les populations introduite (s) et indigène (s) est bidirectionnelle, l'introduction aurait le même effet que la lutte autocide, ou technique du mâle stérile, contre l'agent de lutte biologique (Southammer et al. 2000).

Evitement de la "contamination génétique" des populations indigènes. l'IC bidirectionnelle entre les populations introduites et indigènes pourrait être utilisée pour empêcher la "contamination génétique" des populations indigènes par des populations introduites. L'IC limiterait ainsi la dispersion de gènes étrangers vers d'autres systèmes (ouvrage sous presse, Hopper et al. 2005).

Différenciation génétique entre populations d'agents de lutte biologique. L'IC peut réduire ou éviter le flux de gènes entre populations et promouvoir leur différenciation génétique. L'IC est actuellement considérée comme un mécanisme possible de spéciation rapide (Hurst & Schilthuizen 1998, Werren 1997). Quelques études ont montré que des populations d'une même espèce peuvent être infectées par différentes souches de *Wolbachia* (Merçot et al. 1995, Baudry et al. 2003, Keller et al. 2004), susceptibles de causer des

incompatibilités reproductives bidirectionnelles. Par ailleurs, dans des espèces proches mais reproductivement isolées, la présence de *Wolbachia* a été reliée avec ces incompatibilités (Breeuwer & Werren 1990, Perrot-Minnot et al. 1996, Guillemaud et al. 1997, Shoemaker et al. 1999, Bordenstein et al. 2001). Chez *Nasonia* spp., *Wolbachia* est le principal facteur responsable de l'isolement entre espèces (Breeuwer & Werren 1990). Des travaux de modélisation supportent cette hypothèse d'un rôle de *Wolbachia* dans les processus de différentiation génétique et de spéciation (Telschow et al. 2002, 2005).

Promotion de l'adaptation locale des populations d'agents de lutte biologique.

L'existence de barrières aux flux de gènes est une condition nécessaire à l'adaptation locale (Thompson 2005). L'incompatibilité induite par des symbiontes peut donc favoriser l'adaptation des agents de lutte biologique à leurs environnements locaux, ce qui peut potentiellement favoriser leur efficacité (voir Hufbauer & Roderick 2005).

Coût de l'infection associé aux traits d'histoire de vie des populations. Le spectre des coûts physiologiques associés aux infections induisant l'IC est large (Turelli & Hoffmann 1995, Poinsot & Merçot 1997, Vavre et al. 1999, Dedeine et al. 2001). La valeur sélective des agents de lutte biologique infectés et leur efficacité pourraient être affectées de façon variable selon les systèmes.

Agent de lutte biologique sexué ou parthénogénétique ?

Eviter le coût de la sexualité ("the two-fold cost of sex", Maynard-Smith 1978), c'est-à-dire celui de produire des mâles, peut entraîner une amélioration significative du taux de croissance de la population des agents de lutte biologique. En plus des coûts liés à la production de mâles, les populations asexuées peuvent éviter d'autres coûts fonctionnels tels que ceux liés à l'accouplement. Cette activité est couteuse en termes de temps, d'investissement énergétique et peut, éventuellement, augmenter les risques de prédation ou de transmission de maladies (Godfray 1994). Les agents parthénogénétiques pourraient ainsi avoir des taux intrinsèques de croissance plus importants et être plus intéressants pour une utilisation en lutte biologique que les agents sexués. En outre, les individus, n'ayant pas besoin de trouver des partenaires sexuels, les populations seraient moins soumises à l'effet Allee (Allee 1931, 1938, 1958, Stephens et al. 1999, Stephens & Sutherland 1999). De fait, les conditions de faibles densités lors des introductions affecteraient moins la valeur sélective des individus thélytoques qui pourraient ainsi passer plus facilement la phase critique

d'acclimatation.

En revanche, les populations parthénogénétiques pourraient présenter de plus faibles capacités adaptatives aux nouveaux environnements. La reproduction sexuée a été souvent associée à l'adaptabilité des populations, cela grâce à la recombinaison du matériel génétique et à la génération de variabilité, condition nécessaire à l'adaptation. Maynard-Smith (1978) a suggéré que, dans certaines conditions, la reproduction sexuée et la recombinaison accélèrent le processus d'évolution car elles permettent de réunir au sein d'un même individu des mutations bénéfiques apparues dans différents individus. Par ailleurs, les agents de lutte biologique, du fait de l'évolution de leurs hôtes, peuvent être soumis à des changements environnementaux rapides. La reproduction sexuée serait alors d'autant plus utile à leur adaptation (Hamilton 1980, voir hypothèse de la "Reine rouge" van Valen 1973).

Les microorganismes induisant la parthénogénèse chez les agents de lutte biologique peuvent avoir un effet important sur leur évolution, notamment, sur leur structure génétique. Ces microorganismes peuvent réduire les populations à des ensembles de clones sans échange génétique entre eux (Pannebakker et al. 2004). Cette caractéristique pourrait améliorer la production d'agents de lutte biologique, et faciliter la standardisation et le contrôle qualité des agents produits à des fins commerciales.

Nous avons besoin d'une meilleure connaissance de la diversité des microorganismes associés aux agents de lutte biologique ainsi que de leurs effets sur la structure génétique et l'activité parasitaire de leurs hôtes. Cela permettrait de mieux les utiliser pour améliorer l'efficacité parasitaire des populations et peut-être contrôler leur évolution.

2.4. Le comportement des agents de lutte biologique

Nous restreindrons cette partie au comportement des insectes parasitoïdes. L'activité principale du stade adulte des parasitoïdes consiste essentiellement en la recherche d'hôtes pour assurer leur descendance. Ce comportement de recherche est fortement corrélé à la valeur sélective, de fortes variations inter individuelles peuvent apparaître pour le nombre d'hôtes viables rencontrés, donc parasités avec succès. De ce fait, ces insectes sont des modèles privilégiés et particuliers pour les études comportementales. Ces études ont souvent été intégrées dans des programmes d'évaluation d'agents de lutte biologique.

De nombreuses études concernant le comportement des parasitoïdes lors de la recherche

de l'hôte et le parasitisme ont été réalisées durant les dernières décennies. En effet, depuis les années 70, l'écologie comportementale (Krebs & Davies 1984) s'est développée comme une nouvelle discipline intégrant des concepts de l'éthologie et de la biologie des populations. La Théorie de l'approvisionnement optimal ("*Optimal Foraging Theory*", Charnov 1976), offre un cadre théorique pour cette discipline. Selon cette théorie le comportement est optimisé par la sélection naturelle, comme tous les autres traits du phénotype. Cependant, le comportement est complexe. Les individus doivent faire face à de nombreuses situations et prendre des décisions (par exemple : où chercher de la nourriture, quand se reproduire, etc.) sous les contraintes génétiques, physiologiques et environnementales qui leur sont imposées.

Le développement de l'écologie comportementale a permis d'une part, d'aborder le comportement des parasitoïdes à la lumière de la sélection naturelle en formalisant son lien direct avec la valeur sélective des individus. D'autre part, cette discipline a permis d'avancer dans la compréhension du rôle du comportement individuel dans la dynamique des populations hôte-parasitoïde. L'intégration du comportement individuel dans l'étude de la dynamique des populations a engendré des résultats importants (Sutherland 1996, Sirot & Krivan 1997, Bernstein et al. 1988, Bernstein et al. 1999). A titre d'exemple, Bernstein et al. (1988 et 1999) ont montré par modélisation que des décisions comportementales individuelles d'un prédateur influent sur sa distribution spatiale et sur la stabilité du système.

Cette approche du comportement offre des perspectives importantes, en particulier pour la lutte biologique. Des mesures faites au laboratoire sur des caractères représentant divers aspects du comportement, sont déjà disponibles pour de nombreux parasitoïdes agents de lutte biologique. Parallèlement, des suivis de dynamique de populations sur le terrain, sont disponibles pour plusieurs modèles. Le développement de l'écologie comportementale présentera certainement le cadre théorique pour relier ces deux types d'études et caractériser la dynamique des systèmes sur la base des traits de vie (individuels) mesurables. En retour, ces travaux reliant mesures comportementales et dynamique des populations pourraient servir à prédire les résultats des introductions. Les populations devraient être préalablement caractérisées pour leur comportement et les environnements d'hôte, caractérisés pour leur fonctionnement dynamique.

Quelques questions fondamentales se posent pour comprendre l'impact des études comportementales sur la lutte biologique :

1. Le comportement est-il polymorphe au sein des espèces ? Peut-on caractériser les populations par le comportement des individus ?

Le comportement a longtemps été considéré comme fixé au sein des espèces. La plupart des études éthologiques comparent le comportement entre espèces et non les différences entre populations. Néanmoins, de nombreuses études ont montré que le comportement peut varier entre populations au sein des espèces et qu'il y a une base génétique à ces variations (Mackauer 1976, Chassain et al. 1988, Lewis et al. 1990, Prevost & Lewis 1990, Hopper et al. 1993, Bruins et al. 1994, Kester & Barbosa 1994, Fleury et al. 1995, Gu & Dorn 2000).

2. Le comportement est-il adaptatif ?

Certains auteurs ont montré que le comportement est formé par des caractères très variables phénotypiquement et qu'il est souvent le premier aspect du phénotype à évoluer dans une nouvelle direction (Wcislo 1989, Foster & Endler 1999). Le rôle du comportement dans la spéciation a été reconnu (e.g. la sélection sexuelle, Kondrashov & Shpak 1998, Higashi et al. 1999, l'adaptation à des hôtes alternatifs ou acquisition de nouveaux caractères qui permettent le changement de spectre d'hôtes, voir Turelli et al. 2001, Via 2001). La différenciation du comportement pourrait donc être le produit de pressions de sélections hétérogènes et devrait être un bon indicateur des directions de l'évolution (Amat 2004).

D'après la théorie de la sélection naturelle, les génotypes des parasitoïdes les plus aptes à localiser les hôtes et à les parasiter, en utilisant efficacement l'information du milieu sont favorisés (voir Price 1970, Dicke & Sabelis 1988). Sous certaines conditions fondamentales, les populations soumises à des pressions de sélection différentes peuvent évoluer, diverger génétiquement et leurs individus adopter un comportement divergent entre populations qui leur permet de maximiser leur valeur sélective (i.e. s'adapter). Ces conditions sont : (i) l'existence d'une variabilité génétique concernant le comportement. Elle a été mise en évidence chez des parasitoïdes au sein des populations (Wajnberg et al. 1999 et 2004, Wajnberg & Colazza 1998, Pompanon et al 1999), (ii) un flux de gènes entre populations significativement bas, (iii) des comportements conduisant au meilleur succès parasitaire qui diffèrent entre habitats.

La comparaison du comportement entre populations dans les mêmes conditions physiologiques et environnementales s'est avérée utile pour déterminer l'existence d'*écotypes comportementaux* (voir partie 2.1. sur la taxonomie des agents de lutte biologique). Les

causes et mécanismes de la différenciation, lors des phases précoce de la spéciation ont pu être étudiés à partir de ce type d'études comportementales en conditions contrôlées. C'est ainsi que les rôles de la plasticité phénotypique c'est-à-dire la réponse aux variations de l'environnement, en particulier des capacités d'apprentissage des individus et sa différenciation entre populations, ont pu être mis en évidence (Foster 1999). Cependant, même lorsque deux écotypes comportementaux sont bien différenciés et ont évolué indépendamment, démontrer que la différenciation est le résultat de l'adaptation locale nécessite d'autres méthodes que la comparaison de populations. Quelques travaux ont démontré le caractère adaptatif du comportement. Par exemple, des études sur le poisson *Poecilia reticulata* ont montré une variabilité géographique de phénotypes comportementaux dont le caractère adaptatif a été mis en évidence par des introductions dans de nouveaux habitats soumis à différentes pressions de prédation et des études de sélection au laboratoire. Il a été observé que les différences dans la coloration des mâles correspondent à des compromis optimaux entre la sélection sexuelle qui favorise les mâles brillants et la sélection par crypsis induite par les prédateurs (Endler 1995). Riechert (1999) rapporte aussi un exemple de divergence comportementale adaptative chez l'araignée *Agelenopsis aperta*. D'autres travaux montrent des patrons comportementaux qui s'accordent, au moins qualitativement, avec les prédictions de la théorie des jeux et le modèle de l'approvisionnement optimal (Haccou et al. 1991, Hemerik et al. 1993, Godfray 1994). Ces études suggèrent que le comportement pourrait souvent être adaptatif.

La comparaison du comportement des populations a aussi mis en évidence le caractère non systématique de l'adaptation locale. Par exemple, Van Nouhuys & Via (1999) ont observé une différenciation comportementale entre populations de milieux sauvages et cultivés chez *Cotesia glomerata*. Des expériences de transplantation réciproque entre habitat n'ont pu démontrer le caractère adaptatif de la différenciation. Des exemples de maladaptation comportementale liés au maintien d'un comportement ancestral complexe et coûteux sous conditions de sélection relaxée sont aussi reportés dans la littérature (Foster 1999).

Les causes de maladaptations sont diverses : (i) le flux de gènes entre populations qui vont à l'encontre de la sélection naturelle, (ii) les processus stochastiques qui font que les individus d'une même population et d'une même ou de générations différentes expérimentent des conditions environnementales différentes (i.e. un sous-ensemble de l'environnement différent est accessible à chaque individu). La sélection est faible et sa direction change entre

générations. (iii) la différenciation de comportements entre populations de petite taille par fixation de gènes (dérive génétique) (iv) le maintien de comportements ancestraux devenus maladaptés suite à des changements environnementaux, des contraintes génétiques empêchant les nouveaux caractères d'apparaître.

3. La stratégie comportementale "optimale" convient-elle à la lutte biologique ?

La stratégie comportementale qui permet aux parasitoïdes, agents de lutte biologique, de maximiser leur valeur sélective est-elle *optimale* dans un contexte de lutte biologique ? Quels sont les effets des stratégies comportementales sur la stabilité des systèmes et sur le taux de contrôle de l'hôte ? Si le comportement d'agrégation souvent adopté par les parasitoïdes, leurs réponses aux densités d'hôtes et de parasitoïdes, le comportement de superparasitisme et les mécanismes du déterminisme du sexe-ratio ont pu être modelés par la sélection naturelle, quels sont leurs impacts sur la stabilité du système et le niveau de contrôle du ravageur ? Les modèles théoriques montrent que la stabilité des systèmes parasitoïde-hôte et proie-prédateur est fortement influencée par son évolution génétique. Hochberg et Holt (1995) ont ainsi montré que l'augmentation de la résistance de l'hôte qu'elle soit le fait d'interactions physiologiques ou comportementales, peut réduire le niveau de contrôle mais aussi stabiliser un modèle initialement instable. Van Baalen & Sabelis (1993) ont considéré la coévolution du choix des placettes (i.e. agrégats de proies) dans les systèmes proie-prédateur et ont montré que les distributions écologiquement stables n'évoluaient génétiquement que dans certaines circonstances.

2.4.1. Le comportement d'agents de lutte biologique lors des évaluations

La mesure des traits comportementaux sous des conditions environnementales homogènes peut révéler l'existence d'écotypes environnementaux entre populations d'une même espèce. Cependant le comportement est très souvent défini comme un ensemble de réponses à des conditions environnementales non homogènes, une norme de réaction (Schlichting & Pigliucci 1995). L'étude de la plasticité comportementale (i.e. la comparaison de normes de réaction) permet une meilleure estimation de ce type de différences entre populations. L'étude du comportement en fonction de variations environnementales facilite l'interprétation d'un point de vue dynamique et évolutif. Par exemple, Carroll & Corneli (1999) ont montré chez l'espèce *Jadera haematoloma* (Herrich-Schaeffer) (Hemiptera : Rhopalidae) que dans une population où le sexe-ratio varie saisonnièrement, les mâles

adaptent leur comportement de surveillance des femelles accouplées en fonction du sexe-ratio de la population. Dans une autre population où le sexe-ratio est stable, les mâles ne répondent pas aux variations de sexe-ratio.

Les normes de réaction les plus étudiées lors des comparaisons de populations interspécifiques ou intraspécifique d'agents de lutte biologique sont les réponses aux variations de densité hôte et parasitoïde (e.g. Montserrat 2004, Matadha et al. 2005, Chen et al. 2006). Nous les détaillerons ci-après :

La réponse fonctionnelle

Le terme réponse fonctionnelle a été proposé par Solomon (1949) pour désigner la fonction décrivant la variation du nombre d'hôtes attaqués en fonction de leur densité. Les réponses fonctionnelles et leurs formes ont depuis été au centre des études de dynamique hôte-parasitoïde (et aussi proie-prédateur). La détermination des réponses fonctionnelles a été souvent utilisée pour prédire les effets potentiels des parasitoïdes sur leur population hôte (Oaten & Murdoch, 1975, Hassell 1978, Holmgren 1995). Les paramètres de la réponse fonctionnelle sont souvent utilisés pour la comparaison des agents de lutte biologique. Celui qui présente une meilleure capacité de recherche, sera considéré comme le meilleur candidat pour introduction.

L'interférence mutuelle

L'interférence mutuelle peut être définie comme la réduction de la capacité de recherche individuelle des parasitoïdes due à l'augmentation de leur densité (Hassell & Huffaker 1969; Hassell 1978, van Alphen & Vet 1986). Plusieurs types d'interférence mutuelle ont été mis en évidence, et classés en fonction du type d'interaction entre les individus : (i) **L'interférence mutuelle directe** est observée lorsqu'un parasitoïde réagit à la présence d'autres individus dans la même zone de recherche. Plusieurs modèles d'interférence mutuelle directe tiennent compte du temps perdu pour la recherche de l'hôte lors des rencontres entre parasitoïdes. (Beddington 1975, Holmgren 1995, Stillman et al. 1997). Quelques auteurs ont constaté que ces rencontres conduisent souvent au départ d'un ou de plusieurs individus de la zone de recherche (Waage 1979, Lawrence 1981, Field et al. 1998). L'interférence mutuelle directe comprend aussi les effets négatifs sur l'activité de recherche des femelles de la rencontre d'hôtes déjà parasités (Rogers & Hassell 1974, van Lenteren 1991) ou de la détection de traces chimique de marquage laissées par d'autres femelles les ayant précédées (Price 1970,

Bernstein & Driessen 1996). Le rôle de l'interférence mutuelle dans la stabilisation des interactions hôte parasitoïde est reconnu (Beddington 1975, Bernstein 2000). (ii) **La Pseudo-interférence** résulte de l'agrégation des parasitoïdes dans les placettes à haute densité d'hôtes, ce qui entraîne leur surexploitation et une baisse de la capacité parasitaire à haute densité du parasitoïde (Free et al. 1977, van Alphen & Jervis 1996). (iii) **L'interférence mutuelle indirecte** correspond à la diminution de la capacité de recherche qui résulte d'un temps plus court (ou d'un changement dans la distribution des temps de résidence) par placette lorsque la densité de parasitoïde augmente. Elle ne peut être détectée qu'à l'échelle de la population. Elle est indirecte car elle agit en fonction du temps nécessaire pour retrouver une placette (Visser & Driessen 1991, Visser et al. 1999).

2.5. Les capacités adaptatives des agents de lutte biologique

2.5.1. La convergence climatique entre la zone d'origine et la zone d'introduction

Il est souvent supposé que les agents de lutte biologique sont adaptés localement à l'environnement de leur zone d'origine. Les importations sont donc souvent réalisées à partir de zones d'origine qui présentent des conditions climatiques semblables à la zone d'introduction (van Klinken et al. 2003). La tolérance climatique des agents de lutte biologique est utilisée comme critère lors des évaluations précédant une introduction (Scott 1992, Dennill & Gordon 1990, McClay & Hughes 1995, Lactin et al. 1997, Nowierski & Fitzgerald 2002). Ces études suggèrent que les agents de lutte biologique sont effectivement adaptés aux conditions climatiques spécifiques de la zone d'origine et que la similarité des conditions climatiques doit être considérée lors des opérations de lutte biologique.

2.5.2. Adaptation aux nouvelles conditions environnementales

Il est accepté généralement que les opérations de lutte biologique classique réussies sont celles où l'agent de lutte biologique a pu s'adapter génétiquement aux nouvelles conditions environnementales et au nouvel hôte (Hopper et al. 1993, Roderick 1996). Pour que l'adaptation soit possible, il paraît nécessaire que la variabilité génétique des agents de lutte biologique soit préservée lors des introductions. Or, en dépit du fait que des centaines d'espèces aient été lâchées à travers le monde avec des objectifs de lutte biologique, il n'existe actuellement que peu de données objectives sur la diversité génétique des populations introduites. Il n'existe aucune évidence de l'importance du processus d'adaptation génétique au nouveau milieu pour le succès des opérations de lutte biologique, qu'elles se fassent à l'aide

de parasitoïdes, de prédateurs ou d'herbivores.

Le processus d'introduction d'une population est accompagné d'un goulot d'étranglement de la taille efficace de la population qui peut avoir lieu à un ou plusieurs moments. La population d'individus prélevés de la population d'origine, même importante, n'en représente qu'un échantillon limité. Cette population doit être élevée en condition de quarantaine durant plusieurs générations pour s'assurer de l'absence de pathogènes ou autres parasites qui ne sont pas souhaités dans la zone d'introduction. La consanguinité peut entraîner la mort d'une partie de l'élevage et accroître à nouveau l'effet de dérive génétique. De plus, des processus de sélection aux conditions d'élevage peuvent accentuer la perte de variabilité génétique (Hopper et al. 1993). Ces populations sont souvent soumises à des tests de laboratoire pour étudier leur qualité potentielle pour le contrôle du ravageur. Enfin, lors de l'introduction, il est possible qu'un grand nombre de ces individus ne survive pas. Un goulot d'étranglement populationnel peut s'accompagner alors d'un fort goulot d'étranglement génétique (Barton & Charlesworth 1984). Ce phénomène connu sous le terme d'"effet de fondation" serait un facteur majeur de structuration génétique voire de spéciation dans la nature (Barton & Charlesworth 1984, Carson & Templeton 1984, Gavrilets & Boake 1998). Baker et al. (2003) montrent des évidences expérimentales en populations naturelles. De ce phénomène, les introductions d'agents de lutte biologique pourraient constituer de bons modèles pour tester ces théories.

Les populations introduites passent par une première phase post-lâcher, parfois longue, où elles sont de petite taille ou même extrêmement rares, suivie d'une phase d'expansion démographique soudaine. Durant la première étape, que l'on nomme "acclimatation", des allèles rares sont probablement perdus ainsi qu'une part de l'hétérozygotie. Durant la deuxième étape, l'hétérozygotie peut être restaurée si l'intensité du goulot d'étranglement n'a pas été trop élevée. Cependant Hopper et al. (1993) ont montré que cette situation peut être expliquée par des processus écologiques sans faire appel à des facteurs évolutifs (population à faible nombre de fondateurs, effets Allee suivis d'une croissance exponentielle). Willis et al. (2000) ont montré que des changements phénotypiques des populations suite à des introductions ne sont pas nécessairement génétiques mais reflètent des réponses plastiques à des nouveaux environnements. Enfin, remarquons qu'une plus faible diversité moléculaire n'entraîne pas nécessairement une plus faible capacité adaptative. De nombreuses espèces invasives sont faiblement variables au niveau moléculaire, ce qui n'empêche pas leur succès

écologique. Lindholm et al. (2005) ont ainsi pu montrer que certains poissons invasifs disposaient, malgré une très faible diversité moléculaire, de forts niveaux d'héritabilité additive pour des caractères morphologiques.

Un travail sur l'adaptation génétique des populations d'agents de lutte biologique a été réalisé par Hufbauer (2002), dans une étude particulièrement désignée dans cet objectif. L'auteur a montré que le parasitoïde de pucerons *Aphidius ervi*, introduit aux Etats-Unis, se développe moins bien sur son hôte local que le parasitoïde de la population d'origine (France). Une réduction de la variabilité de la capacité à contourner la résistance de l'hôte des parasitoïdes introduits par rapport aux parasitoïdes de la population d'origine a été mise en évidence. Ses résultats suggèrent que l'introduction de *A. ervi* a été accompagnée par une évolution non-adaptative de la population. Hufbauer et al. (2004) ont montré ultérieurement une différenciation génétique (neutre) entre des populations européennes et d'Amérique du Nord. De façon similaire, Baker et al. (2003) montrent une réduction de la variabilité génétique neutre qui accompagne l'introduction du Braconide *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) en Australie, ainsi qu'une différenciation génétique importante entre populations introduites et d'origine. Une étude de Lemasurier & Waage (1993) suggère une adaptation locale d'agents de lutte biologique à leur nouvel hôte. Les auteurs montrent que le taux d'attaque d'une population de *Cotesia glomerata* introduite (aux Etats-Unis) sur l'espèce cible est plus important que le taux d'attaque de la population d'origine (Angleterre) qui n'attaque pas cet hôte en milieu naturel.

Par ailleurs, des études sur le développement de résistance aux pesticides chez les agents de lutte biologique sur le terrain montrent aussi des évidences sur leur capacité d'adaptation à de nouveaux habitats (e.g. Baker & Weaver 1993, Rathman et al. 1995, Xu et al. 2001).

Malgré le manque d'observations, la variabilité génétique de caractères adaptatifs apparaît théoriquement importante lors du processus d'acclimatation et adaptation locale des agents de lutte biologique (revu par Hopper et al. 1993). La compréhension des processus génétiques et évolutifs qui accompagnent les introductions pourra nous permettre de promouvoir les adaptations ainsi que de limiter les maladaptations, ce qui pourrait améliorer leur efficacité. Comprendre les phénomènes évolutifs liés aux changements d'hôte pourrait diminuer les risques environnementaux des introductions.

Enfin, introductions de lutte biologique et invasions biologique mettent en jeu des mécanismes écologiques et génétiques similaires. Les causes de leur succès et de leurs effets indirects peuvent certainement être comprises dans le même cadre conceptuel. Le développement rapide d'un cadre conceptuel pour l'étude des invasions biologiques sur un plan génétique (Facon et al. 2006) permettra, si des ponts s'établissent avec une théorie de la lutte biologique, d'améliorer nos capacités de prédition.

Chapitre II

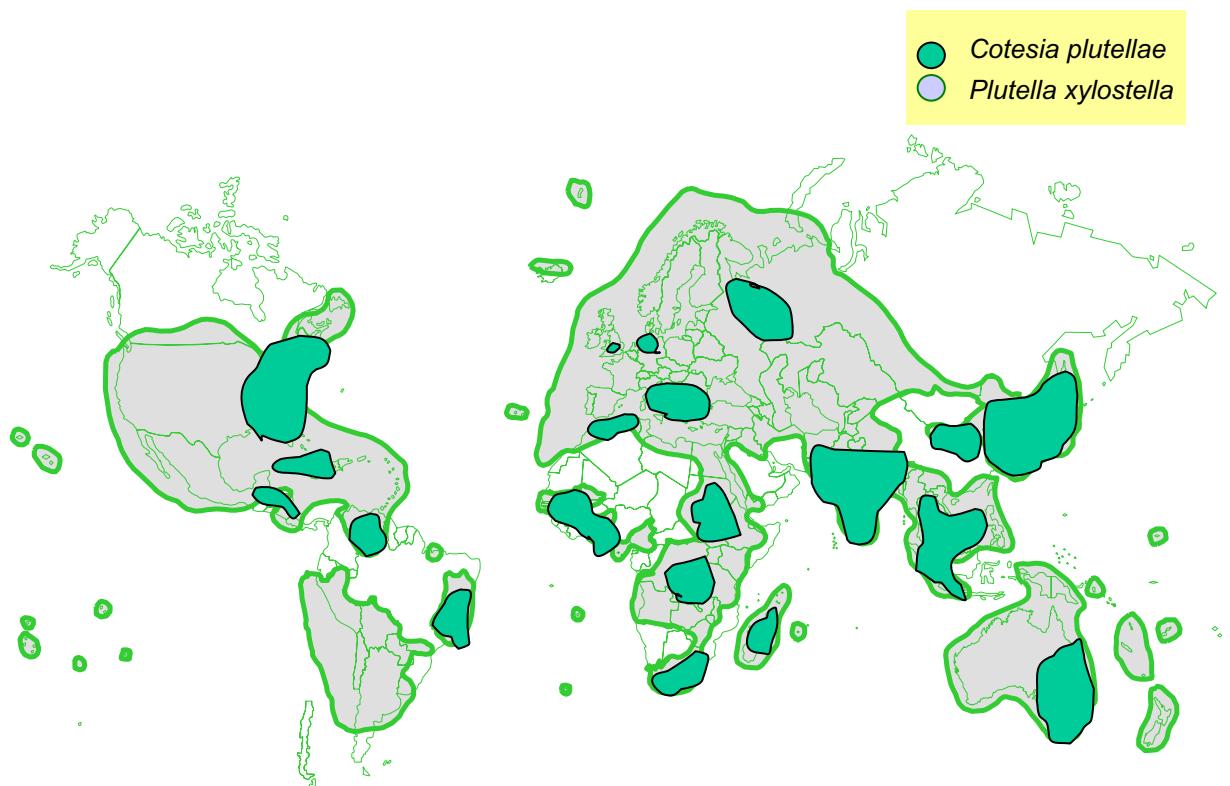
Différenciation morphométrique et génétique,
et isolement reproductif entre populations du
parasitoïde *Cotesia plutellae*

Chapitre II

Différenciation morphométrique et génétique, et isolement reproductif entre populations du parasitoïde *Cotesia plutellae*

1. Contexte de l'étude

La lutte biologique reste actuellement le composant principal de gestion intégrée contre la teigne du chou *Plutella xylostella* (Linnée) (Lepidoptera: Plutellidae) car elle est la seule stratégie de lutte efficace contre les populations résistantes aux insecticides (Talekar & Shelton 1993). Parmi les agents de lutte biologique, le parasitoïde larvaire solitaire *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) est actuellement l'agent le plus répandu. Les rapports bibliographiques confirment sa présence sur tous les continents (voir Carte 1). Sa répartition cosmopolite est liée au fait qu'il a été introduit dans les zones non colonisées et réintroduit dans d'autres où il était déjà présent, avec des objectifs de lutte biologique. Néanmoins, une partie importante de ces introductions a eu des résultats négatifs (Cock 1985, Waterhouse & Norris 1987, Cordero & Cave 1992, Waterhouse 1992, Chaves et al. 1993, Monnerat 1995) ou qui varient de manière importante entre localités (Goudegnon et al. 2004, Kfir 1997, Waladde et al. 1999, Guilloux et al. 2003). Les résultats incertains des introductions et la variabilité des taux de contrôle locaux peuvent être la conséquence de conditions environnementales locales ne favorisant pas l'efficacité des individus introduits. Néanmoins, il est possible aussi que les populations de *C. plutellae* aient divergé, voire constitué des espèces cryptiques (Delvare 2002). En effet, la distribution géographique de *C. plutellae* est vaste mais il est possible qu'elle soit fragmentée (voir Carte 1). Le flux de gènes entre populations peut être limité, permettant ainsi leur différenciation génétique. D'autre part, la distribution du parasitoïde ainsi que celle de son hôte couvrent une grande diversité d'agro-écosystèmes qui diffèrent par leurs conditions agro-écologiques. Ce qui pourrait être à l'origine de pressions de sélection différentes. Ainsi, il est possible que les populations de *C. plutellae* aient pu diverger soit par dérive génétique ou par sélection naturelle.



Carte 1. Distribution géographique de *Cotesia plutellae* et de son hôte *Plutella xylostella* (D'après Guilloux, 2000).

2. Objectifs de l'étude

Cette partie de la thèse a eu pour objectif de déterminer si des populations de *C. plutellae* couvrant une répartition assez large du parasitoïde et originaires de zones où aucune introduction volontaire n'a été signalée, présentent des différences génétiques ou morphométriques. Nous avons étudié la compatibilité reproductive entre populations à fin de clarifier leur statut taxonomique (d'après le concept biologique d'espèce) et vérifier l'existence d'espèces cryptiques au sein de l'espèce. Cette étude a permis de développer des marqueurs morphométriques et moléculaires des populations qui pourraient éventuellement être utilisés pour le suivi d'introductions futures. Enfin, nous avons testé la relation statistique entre la différenciation morphométrique et moléculaire entre populations et leur isolement reproductif afin de disposer d'outils pratiques simples pour inférer la compatibilité reproductive entre populations sur la base de caractères mesurables ou identifiables en laboratoire. Cette étude a permis de quantifier l'effet de facteurs génétiques et de *Wolbachia* sur l'incompatibilité entre populations. Le caractère pré- ou post-accouplement de l'incompatibilité reproductive a également été déterminé.

3. Présentation des travaux et méthodes utilisées

Les travaux de cette partie de la thèse seront présentés sur la forme de deux articles et d'une note courte.

Article 1. Reproductive isolation and differentiation between five populations of Cotesia plutellae (Hymenoptera: Braconidae), parasitoid of Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae)

Claudia Rincon, Dominique Bordat, Bernhard Löhr & Stéphane Dupas

Biological Control 36, pp. 171-182.

Des individus issus de cinq populations de *C. plutellae* originaires d'Afrique du Sud, du Bénin, de la Martinique, de la Réunion et de Taïwan ont été caractérisés par la longueur de leur corps et de leurs antennes. Ces caractères ont été étudiés car ils sont liés au dimorphisme sexuel de l'espèce. Les femelles de *C. plutellae* sont en général plus grandes que les mâles et possèdent des antennes elles aussi plus longues que celles des mâles. Ensuite, nous avons déterminé par PCR, le statut vis-à-vis de l'infection de *Wolbachia* de 15 individus par population et séquencé un fragment du gène codant pour le *Cytochrome B* de trois individus par population. Un modèle statistique a permis de tester la relation entre la différenciation morphométrique, moléculaire, l'infection par *Wolbachia* et l'isolement reproductif entre populations.

Article 2. Reproductive isolation between Cotesia plutellae (Hymenoptera: Braconidae) populations: relative importance of genetics and Wolbachia endosymbionts.

Claudia Rincon, Bernhard Löhr, Hélène Henri, Dominique Bordat, Christophe Tertois & Stéphane Dupas

En préparation, prêt à soumettre

Nous avons étudié l'isolement reproductif entre trois populations originaires d'Afrique du Sud, du Bénin et de Taïwan. A la différence du premier article, les individus utilisés dans les croisements ont été testés eux-mêmes pour leur statut vis-à-vis de l'infection par *Wolbachia*. L'accouplement entre individus a été contrôlé par dissection de spermathèque et vérification de la présence de spermatozoïdes (l'observation directe des accouplements demandant trop de temps à cause de l'absence de caméra au laboratoire). Un modèle statistique a permis de quantifier l'effet de la différenciation moléculaire et de l'infection par *Wolbachia* sur

l'isolement reproductif entre populations. Le gène *wsp* de *Wolbachia* a été séquencé pour les populations infectées afin de caractériser le variant.

Note. Etude des différences génétiques liées aux gènes viraux entre populations de *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae)

Claudia Rincon, Bernhard Löhr, Dominique Bordat, Stéphane Dupas

Article en cours de rédaction

Un fragment du gène d'origine virale (polydnavirus) intégré à l'ADN nucléaire du parasitoïde a été séquencé pour un ensemble de 16 individus issus de 6 populations originaires d'Autriche, d'Afrique du Sud, du Bénin, de la Martinique, de la Réunion et de Taïwan. Les analyses montrent l'existence de trois groupes paraphylétiques, un premier constitué par les individus issus des populations du Bénin, de la Réunion et de Taïwan et deux autres d'Afrique du Sud et d'Autriche et de la Martinique. Pour les deux derniers, la phylogénie n'est pas résolue sur la base de nos résultats.

4. Résultats principaux

Ces travaux mettent en évidence une différenciation morphométrique et génétique importante entre les populations étudiées du parasitoïde *C. plutellae*. Les différences morphométriques concernent principalement le dimorphisme sexuel qui est plus prononcé pour les populations du Bénin, de Taïwan et de la Réunion que pour celles de Martinique et d'Afrique du Sud. Les populations du parasitoïde présentent des incompatibilités reproductives partielles mais importantes en condition de laboratoire. Les populations étudiées au cours de nos travaux forment deux groupes statistiquement différenciables par leur morphométrie et par des marqueurs moléculaires. La compatibilité reproductive est significativement plus importante à l'intérieur des groupes qu'entre eux. Un premier groupe est constitué par les populations du Bénin, de la Réunion et de Taïwan et un deuxième par celles de l'Afrique du Sud et de la Martinique. D'après les séquences virales, le premier groupe constitue une unité monophylétique, tandis que le deuxième groupe nécessite une analyse moléculaire plus approfondie.

Des différences morphométriques associées au dimorphisme sexuel, ainsi que génétiques, et leur isolement reproductif suggèrent que les groupes de populations de *C. plutellae* pourraient évoluer et constituer des espèces différentes. L'influence d'autres facteurs, tels qu'une éventuelle différenciation écologique entre les groupes et les introductions et

réintroductions du parasitoïde, avec des fins de lutte biologique, sur l'évolution de l'espèce sont discutés. L'importance de connaître la distribution géographique des groupes ainsi que l'éventuelle existence d'autres groupes nouveaux est soulignée en tenue de la compréhension de l'évolution de l'espèce.

L'incompatibilité reproductive chez *C. plutellae* a été expliquée statistiquement par la différenciation génétique (séquences du *Cyt B*) et morphologique entre populations. L'effet de *Wolbachia* sur l'incompatibilité n'a été démontré statistiquement que lorsque le statut vis-à-vis de l'infection a été déterminé sur les mêmes individus utilisés dans les croisements (Article 2). Dans tous les cas, l'effet de *Wolbachia* semble moins important que celui des facteurs génétiques, qu'ils ne semblent que renforcer. L'étude de la compatibilité entre individus issus d'une même population mais avec des statuts différents vis-à-vis de l'infection devrait être réalisée afin de compléter nos travaux.

Nos expériences suggèrent l'existence de barrières à la reproduction de type post-accouplement et pré-zygotique entre les populations. Des études montrent que l'évolution de ce type d'isolement reproducteur est plus probable en allopatrie qu'en sympatrie (Coyne & Orr 1989, Noor 1999). Nos études moléculaires montrent une indépendance phylogénique entre les deux groupes de populations renforçant cette hypothèse. Des études complémentaires sur la phylogénie de l'espèce s'avèrent nécessaires.

Nos résultats soulignent l'importance de connaître l'incompatibilité entre populations de *C. plutellae* pour la gestion des introductions. Souvent, afin d'assurer une variabilité génétique suffisante qui permette l'installation du parasitoïde dans une nouvelle zone, des populations d'origines différentes sont mélangées. Lorsque les populations mélangées sont incompatibles entre elles ou lorsqu'elles sont incompatibles avec la population indigène, leurs taux de croissance populationnels pourraient être significativement réduits (Stouthamer et al. 2000, Mochiach et al. 2002). Cela pourrait expliquer en partie de nombreuses introductions infructueuses de ce parasitoïde dans des zones déjà colonisées (Cock 1985, Waterhouse & Norris 1987, Cordero & Cave 1992, Waterhouse 1992, Chaves et al. 1993, Monnerat 1995).

De nouvelles études sur les mécanismes de l'isolement s'avèrent nécessaires pour progresser dans la compréhension des processus évolutifs au sein de l'espèce mais aussi pour augmenter la robustesse des marqueurs morphométriques et moléculaires de l'incompatibilité proposés par nos travaux.

Article 1. Reproductive isolation and differentiation between five populations of *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

Claudia Rincon, Dominique Bordat, Bernhard Löhr, Stéphane Dupas

Abstract

Many taxa used in biological control may be composed of several population units reproductively isolated to various degrees. Yet, the introductions of non-compatible populations may result in a depression of intended biological control. *Cotesia plutellae* has been widely used as a biological control agent of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. However, not all introductions and augmentations were successful. With the aim to develop markers of compatibility for this species, we studied the reproductive compatibility between five populations (South Africa, Benin, Martinique, Reunion, and Taiwan) and analyzed its statistical relationship with three morphological characters (antennae and body length and antennae/body ratio), one molecular character (sequence of a cytochrome *b* fragment) and the *Wolbachia* infection status. This study shows that *C. plutellae* populations formed two interbreeding groups. The antenna/body length ratio of females, the ratio between male and female body length, one non-silent base pair substitution observed in cytochrome *b* sequences, and *Wolbachia* infection status differentiate these groups and were all good predictors of reproductive compatibility. Our results suggest also that genetic factors independent from *Wolbachia* are needed to fully explain reproductive isolation between *C. plutellae* populations. We conclude that *C. plutellae* is a single species composed of at least two partially incompatible population aggregates. Diagnostic markers were proposed for the prediction of the level of reproductive compatibility between populations which can be used for further biocontrol introductions.

Keywords

Cotesia plutellae; Reproductive incompatibility; Population differentiation; *Plutella xylostella*; Morphological markers; DNA sequences; *Wolbachia*; Biological introductions.

1. Introduction

The possible reproductive isolation between populations of natural enemies has not received much attention from researchers in the context of classical biological control. However, the introduction of reproductively incompatible biological control agents may have detrimental consequences on the outcome of biological control operations, even leading to the extinction of the local populations of natural enemies. Partial reproductive isolation can potentially reduce fertility due to post-mating incompatibilities and/or reduce progeny viability by hybrid depression (Turelli et al., 2001). If the incompatibility occurs post-mating only, the release may have an outcome similar to a sterile insect release program (Stouthamer et al., 2000). Stouthamer et al. (2000) demonstrated by modeling that in the absence of pre-mating incompatibility, the release of an incompatible strain in the habitat of another causes a prolonged depression of the local population growth rate.

Reproductive incompatibilities between populations can be induced by the *Wolbachia* infection. Its effect, known as cytoplasmic incompatibility (CI), affects only crosses between uninfected females and infected males. The mechanism of CI has been related to a “modification-rescue” system where *Wolbachia* modifies the sperm of infected males, and only the same strain of bacteria present in the egg can rescue the modification, allowing for a viable zygote production. CI occurs when the modification in the sperm cannot be rescued by the egg, either because the absence of the *Wolbachia* infection in the female or by the presence of another *Wolbachia* variant (for a review on cytoplasmic incompatibility see Hoffmann and Turelli, 1997 and Werren, 1997). Mochiah et al., (2002) modeled the effect of the introduction of a population infected with *Wolbachia* in a locality occupied by a non-uninfected population. They showed that the mixture of *Wolbachia* infected and uninfected populations causes a transitory but possibly long term reduction of local populations growth rate and, consequently of the levels of control of the pest. Stouthamer et al., 2000 and Mochiah et al., 2002 works underline the importance of understanding reproductive isolation between strains of biological control agents before their introduction.

Cotesia plutellae (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae), a solitary larval endoparasitoid, is one of the most important biological control agents of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae), regarded as the most significant pest of Brassica crops. The pest has developed resistance to all synthetic pesticides

(Cheng, 1988), including biopesticides on the basis of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (McGaughey and Whalon, 1992, Sanchis et al., 1995, Tabashnik et al., 1990 and Tabashnik et al., 1997). Integrated pest management has shown encouraging results by combining several environmentally compatible practices (Biever et al., 1994, Nakahara et al., 1986, Talekar & Shelton, 1993 and Verkerk and Wright, 1996). *C. plutellae* is one of the most important pillars of diamondback moth control in Southeast Asia (Lim, 1992 and Talekar, 2004).

Although the parasitoid exhibits almost worldwide distribution, it is currently reintroduced in already colonized areas, with biological control objectives. A number of attempts to introduce or reintroduce this parasitoid have failed (Chaves et al., 1993, Cock, 1985, Cordero and Cave, 1992, Monnerat, 1995, Waterhouse and Norris, 1987 and Waterhouse, 1992). A lack of knowledge of the biology and ecology of the introduced populations, and reproductive incompatibilities between local and introduced (or among introduced) populations may have been major factors for these failures.

Reproductive incompatibilities can be associated to a process of ecological differentiation, involving fitness related traits (Templeton, 1998), which could have some importance for biological control operations. For instance, the characterization of the specificity of *C. plutellae* appears to vary between studies. Various authors have considered *C. plutellae* to be host specific to *P. xylostella* (Cameron et al., 1998). However, other authors have recorded or reared it on several other species of Lepidoptera (Fitton and Walker, 1992 and Lipa et al., 1993). Shiojiri et al. (2000) found that *C. plutellae* responds to volatiles emitted from cabbage plants damaged by host larvae, not to those emitted directly from insect hosts, suggesting it may potentially attack several host species on cabbages. Wang and Keller (2002) categorized *C. plutellae* a generalist natural enemy. In addition, rates of parasitism of populations of *C. plutellae* and the level of control exerted on the pest are also highly variable geographically (Goudegnon et al., 2004, Guilloux et al., 2003, Kfir, 1997 and Waladde et al., 1999). Even though this scenario is common in biological control, the differences recorded in *C. plutellae* host range, behavior, and biological control performance could also arise from a misidentification of cryptic species. Guilloux (2000) demonstrated an important biochemical differentiation between populations originating from Benin, Reunion, Taiwan, and South Africa.

To clarify whether a taxonomic problem could explain biological differences as well as the introduction failures of *C. plutellae*, we performed crossing experiments to measure the level and the direction of reproductive isolation between five populations of *C. plutellae*. The

prevalence and clade type of *Wolbachia* present in each of the five populations was determined by PCR tests. We also conducted morphological analyses and molecular studies of these populations, based on partial mitochondrial cytochrome *b* gene sequences, a marker that has proven useful to evaluate the differentiation at the species level. The statistical relationship between morphological and molecular differentiation and reproductive isolation traits was evaluated to develop a diagnostic procedure for the prediction of reproductive incompatibility between local and (or) introduced populations.

2. Materials and Methods

2.1. Biological material

Five populations, originating from South Africa, Benin, Martinique, Reunion Island, and Taiwan were used in this study. These localities were selected because of their wide geographic separation and because the presence of the parasitoid in these zones is supposed to be natural (no introduction was reported in literature). Colonies of *C. plutellae* were obtained from *P. xylostella* larvae collected from field-grown cabbage plants. Larvae from each site were placed separately in square plastic boxes (30 × 27 × 10 cm) with a rectangular opening cut into the cover for aeration. Larvae were fed with fresh cabbage (*Brassica oleracea* subsp. *capitata* L.) leaves until pupation or the egression of parasitoid larvae. A stock of non-parasitized *P. xylostella* originating from Benin was kept for parasitoid rearing and experiments. This colony was maintained either on potted *Brassica juncea* L. Czern. plants for oviposition, in ventilated oviposition cages, or on potted cabbage plants for the development of larval stages. Host larvae at early L3 stage were exposed to *C. plutellae* on potted cabbage in ventilated cages and maintained on the plant until cocoon formation. Cocoons were collected and held in plastic cages until adult emergence. Adult wasps were fed on honey. All insects were kept in climate-controlled rooms (25 °C, 16L:8D, 30–50% relative humidity).

2.2. Crossing experiments

Virgin female parasitoids from the five strains of *C. plutellae* were placed individually in aerated plastic boxes with virgin males from the corresponding strain. Crosses were performed in both directions. Homogamic control crosses (within populations) were performed for Benin and Martinique strains. Ten to 12 early L3 larvae of *P. xylostella* were exposed to parasitoid couples during 24 h and maintained on cabbage leaves until the

production of pupae and adults of *C. plutellae* or until caterpillar pupation. The fertility of hybrids was checked using the same procedure.

The experimental set-up was completely randomized with 10 replications for each of the 20 combinations between populations. Due to the haplodiploid mode of reproduction of *C. plutellae*, incompatible crosses result in the absence of female offspring. Therefore, reproductive compatibility was calculated as the proportion of couples that produced at least one female, in each direction. We used these proportions also to produce a chart using Darwin 5.0 program. The sex ratio of compatible crosses was calculated to differentiate between partially compatible crosses.

2.3. Morphometric data

Adult body length (from the head to the end of the abdomen), and the length of the left/right antenna were measured under a binocular with an ocular micrometer on 80 adults of each sex in each of the five populations and the antenna/body length ratio was calculated. These characters were selected because they are secondary sexual characters in *C. plutellae* that could potentially be related with reproductive isolation and because they appeared to differ between strains.

2.4. Molecular analyses

Parasitoid DNA was extracted from whole insects using Chelex resin (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA)/ProteinaseK (Fischer Scientific, Fair Lawn, NJ). Individual alcohol-preserved parasitoids were dried for 10 min, frozen in liquid nitrogen for 1 min, and ground with pestles on ice, in a 200 µl of 10% Chelex solution in 1.5 ml microcentrifuge tubes. Eight microliters of 2.5 mg/ml ProteinaseK solution were added to the tubes. Solutions were incubated at 55 °C for 1 h, heated twice to 90 °C for 15 min, and centrifuged for 2 min at 14,000 rpm. The supernatant was refreshed by a 1 min 14,000 rpm centrifugation before each PCR.

A 461-bp fragment of the mitochondrial gene cytochrome *b* was PCR amplified using CB1–CB2 primer pair (Simon et al., 1994) in 3 mM MgCl₂, 400 µM dNTPs, and 400 µM of each primer. One microliter Promega *Taq* DNA polymerase was added per 25 µl reaction. PCR cycling conditions were: 5 min at 94 °C, 39 cycles (1 min at 92 °C, 1.5 min at 48 °C, and 1.5 min at 72 °C) and 5 min at 72 °C. Amplimer sizes were checked on a 1% agarose gel. PCR products were cleaned up using the QIAquick PCR purification kit (Qiagen, S.A.) and

directly sequenced in both directions on automated sequencer (ABI Prism 373, Applied Biosystems). Three individuals were analyzed from each of the five *C. plutellae* populations.

The presence of *Wolbachia* was checked on 15 individual parasitoids per population by a PCR amplification test using the *wsp* gene. To double check the absence of *Wolbachia*, two different forward primers, one generalist and one specific to *Wolbachia* type B *wsp* gene were used successively along with the generalist reverse primer 691R (Ngi-Song and Mochiah, 2001). The PCR was performed in 3 mM MgCl₂, 400 μM dNTPs, and 400 μM of each primer. The PCR cycles were: 5 min at 94 °C, 39 cycles each consisting of 50 s at 94 °C, 1 min 20 s at 55 °C, and 1 min 20 s at 72 °C, and 5 min at 72 °C. Concentration and quality of DNA templates for PCR were checked by PCR amplification of the cytochrome *b* gene as described before (Simon et al., 1994).

2.5. Statistical procedures and modeling of reproductive incompatibility

In a first step of analysis, homogeneity hypotheses were tested for different traits between populations or groups of populations. Analyses of variance (ANOVA) were performed on generalized linear models (*glm*) outputs. Depending on the nature of the data, different residual distribution models were used for the ANOVA analysis. Binomial distribution was selected for testing differences in sex ratio and in proportion of compatible couples. Poisson distribution was used for differences in progeny size and Gaussian distribution was selected for morphometric analyses. For the latter, means were also separated with Student–Newman–Keuls statistics at $P < 5\%$ level. To improve the validity of each residual distribution model, overdispersion or underdispersion within crosses were tested using chi-squared test on the residual deviance. When the overdispersion or underdispersion tests were significant, a dispersion parameter was included in all the analyses concerning the trait. Statistical analyses were realized using the “*R*” statistical program (The R development core team, 2003).

In a second step, the statistical relationship between reproductive isolation and morphological or molecular traits was evaluated using a *glm*, where the dependent variable was the probability of reproductive incompatibility. Binomial distribution and logistic link function were used. The independent variables were morphometric and molecular variables that were shown to be significantly different between populations (from the first step of the analysis). They were used as predictors of reproductive incompatibility and were: (1) male/female body length ratio (*MFR*), (2) female antenna/body length ratio (*ABR*), (3) molecular divergence (*MD*), and (4) *Wolbachia* incompatibility (*WI*).

Morphometric divergences (*MFR* and *ABR*) were calculated as differences between the means of populations. We used ratios because they do not depend on the absolute size of individuals. *MFR* was calculated as ratio between male and female population means. It was used as an independent variable since male and female body lengths were found to be identical in some populations and significantly different in the others. *MFR* and *ABR* were included in the *glm* analysis since these variables were associated to sexual dimorphism and were likely to be involved in reproductive isolation. Molecular divergence was estimated as the percentage of base pairs that differed between population sequences. The probability of incompatibility due to differences in *Wolbachia* infection (*WI*) was calculated as:

$$WI = p_{mi} * (1 - p_{fi}),$$

where p_{mi} and p_{fi} are the probabilities of infection, in male and female, respectively, estimated from PCR tests (for a review on cytoplasmic incompatibility see Hoffmann and Turelli, 1997). The probabilities p_{mi} and p_{fi} were estimated as the prevalence of *Wolbachia* in the originating populations, in males and females respectively. We assumed that all infected individuals harbor the same bacterial strain.

Our general hypothesis was that reproductive incompatibility between populations of *C. plutellae* can be estimated by the morphometric and/or the molecular differences between populations and/or by their *Wolbachia* infection status. A general probabilistic model of reproductive incompatibility was proposed:

$$\begin{aligned} & \text{Probability of Reproductive Incompatibility (PRI)} = \\ & \text{Morphometric Divergence} + \text{Molecular Divergence} + \text{Incompatibility due to Wolbachia}. \end{aligned}$$

We investigated the best combination of variables that explains most of the variation in reproductive incompatibility between *C. plutellae* populations. Models were composed either of a single factor, combinations of two factors, combinations of three factors or a model including the four factors. These generalized linear models (*glm*) quantified the relationship between morphometric and molecular differences and the level of reproductive incompatibility between populations. The independent variables were of different nature and may have different distribution affecting homoscedasticity of the linear predictors. We tested whether attempts to homogenize their distribution types through usual transformations (Arcsine for probabilities and Jukes–Cantor distances for percentage of nucleotide divergence) changed the best combination of variables explaining reproductive

incompatibility. Since transformations did not affect the outcome of the analysis, we performed the analysis with non-transformed values.

As models were special cases of the general model (i.e., combinations of variables from among the general model variables), the goodness of fit of the different models was compared using likelihood ratio tests (LRT), the Akaike information criterion (AIC), and the Schwarz criterion (SC) (also referred to as a Bayesian information criterion, or BIC) (Johnson and Omland, 2004). LRT allow us to compare pairs of nested models from among the candidate set (i.e., between the simpler model that is a special case of the more complex model). In the absence of significant differences between models, LRT selects a priori the simplest model, whereas AIC selects the one that exhibits the lowest corrected deviance. SC is structurally similar to AIC but includes an additional penalty term dependent on sample size. Consequently, it tends to favor simpler models, particularly as sample size increases. These methods of model selection were used to identify the best combination of characters explaining data, thus lending support to one particular hypothesis of factors predicting reproductive incompatibility.

A principal component analysis (PCA) was performed on the different predictive variables in order to determine the dimensionality of the dataset. A set of uncorrelated variables was produced from the linear combinations of morphological and molecular variables (i.e. factors). The analysis was used to find the principal dimensions that characterize the maximum variation in our variables and to describe the relationship between these variables. The factors created by PCA were ranked according to the amount of variation they accounted for. Their significance for explaining reproductive compatibility was then evaluated in hierarchical order by the null hypothesis method in a new set of generalized linear models. We compared their fit by a LRT to determine how many of the independent principal components of biological differences were necessary to explain reproductive compatibility.

3. Results

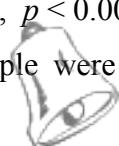
3.1. Reproductive compatibility

Reproductive compatibility between *C. plutellae* populations originating in South Africa, Benin, Martinique, Reunion, and Taiwan was estimated from reciprocal crossing experiments. Because incompatible crosses do not produce female offspring, we calculated the proportion of couples that produced females for each cross. The proportion of incompatible couples

varied significantly between crosses (ANOVA, binomial $glm \chi^2 = 121.93$, $df = 21$, $p < 0.001$) (Table 1). The Benin homogamic cross (within population) and the Benin female/Taiwan male couples were fully compatible, whereas incompatible couples were found to varying degrees among the Martinique homogamic cross and all other heterogamic crosses. The ranking of heterogamic crosses (between populations) in descending order of compatibility was Martinique/South Africa and Reunion/Taiwan (90%), followed by Taiwan/Benin (70%) and Benin/Reunion and Taiwan/Reunion (60%). Compatibility in all other combinations was 50% or lower (Table 1). The average number of offspring produced by one single female varied between 4.3 (cross Reunion \times Martinique and Taiwan \times Martinique) and 7.9 (cross Benin \times Benin) adults. The average number of progeny was significantly higher in the homogamic than in the heterogamic crosses (ANOVA, Poisson $glm \chi^2 = 30.49$, $df = 1$, $p < 0.001$). In addition, compatible couples, independently from cross, produced significantly more individuals than incompatible couples (ANOVA, Poisson $glm \chi^2 = 22.21$, $df = 1$, $p < 0.001$). There was an effect of the female strain on the number of progeny (ANOVA, Poisson $glm \chi^2 = 37.09$, $df = 4$ $p < 0.001$). Females from Benin produced most offspring (6.9), followed by Martinique (6.0) while the other three populations were in a lower and similar range (5.1–5.3). The average sex ratio varied widely between 0 and 63% females (Table 1) and was significantly correlated with the percentage compatibility (Spearman's rank correlation $\rho = 0.954$, $p < 0.001$).

When comparing couples from all crosses, the number of males produced by incompatible couples (5.3) was twice that produced by compatible ones (2.6) and significantly different (ANOVA, Poisson $glm \chi^2 = 79.75$, $df = 1$, $p < 0.001$). For compatible couples, the sex ratio of the progeny was similar for all crosses and was not statistically related to the compatibility between the strains they originated from (ANOVA, binomial $glm \chi^2 = 19.84$, $df = 18$, NS). All F1 females were fertile suggesting the absence of post-zygotic isolation.

Assuming that reproductive isolation between populations of *C. plutellae* increases proportionally to their differentiation, we estimated the linear relationship between populations using average proportions of males produced as the value of differentiation. Fig. 1 presents the output of the Darwin 3.5 software based on these data. Two interbreeding groups are shown: South Africa and Martinique populations (group 1) and Benin, Reunion, and Taiwan populations (group 2). The couples are significantly more compatible within group than between group (ANOVA, binomial $glm \chi^2 = 23.28$, $df = 1$, $p < 0.001$). When within group and between groups progeny size and sex ratio per couple were compared



differences were recorded for progeny size (ANOVA, Poisson $glm \chi^2 = 6.65, df = 1, p = 0.01$) but no for sex ratio (ANOVA, binomial $glm \chi^2 = 1.83, df = 1, NS$).

Table 1. Reproductive compatibility between five strains of *Cotesia plutellae*.

Cross	Compatibility Rate	Number of wasps produced			Overall sex ratio (proportion females)			Sex ratio of compatible couples		
SA-B	0.5	6.2	±	0.49	0.34	±	0.12	0.66	±	0.11
SA-M	0.4	5.1	±	0.67	0.23	±	0.12	0.58	±	0.21
SA-R	0.1	4.5	±	0.62	0.09	±	0.09	0.89		
SA-T	0.4	4.4	±	0.43	0.27	±	0.12	0.65	±	0.14
B-SA	0.3	7.2	±	0.51	0.19	±	0.11	0.65	±	0.18
B-B	1	7.9	±	1.10	0.49	±	0.05	0.49	±	0.05
B-M	0	6.3	±	0.56	0					
B-R	0.6	6.6	±	0.65	0.36	±	0.13	0.61	±	0.13
B-T	1	6.4	±	0.34	0.41	±	0.06	0.41	±	0.06
M-SA	0.9	6.2	±	0.36	0.63	±	0.09	0.69	±	0.06
M-B	0	5.9	±	0.51	0					
M-M	0.9	7.4	±	0.60	0.5	±	0.10	0.55	±	0.10
M-R	0	5.1	±	0.60	0					
M-T	0.3	5.6	±	0.48	0.2	±	0.12	0.68	±	0.19
R-SA	0.3	5.1	±	0.60	0.25	±	0.13	0.85	±	0.09
R-M	0.3	4.3	±	0.50	0.16	±	0.09	0.54	±	0.14
R-B	0.1	5.9	±	0.43	0.05	±	0.05	0.5		
R-T	0.9	5.8	±	0.53	0.55	±	0.10	0.62	±	0.09
T-SA	0.2	5.3	±	0.58	0.19	±	0.09	0.71	±	0.04
T-B	0.7	5.2	±	0.44	0.58	±	0.14	0.82	±	0.08
T-M	0.1	4.3	±	0.54	0.05	±	0.05	0.5		
T-R	0.6	5.6	±	0.62	0.32	±	0.12	0.55	±	0.15
Intra-groups	0.73±0.08	6.05	±	0.34	0.42	±	0.05	0.59	±	0.04
Inter-groups	0.19±0.05	5.48	±	0.28	0.14	±	0.05	0.68	±	0.05
Glm p-value		3.576e-16		0.010			2.217 e-59			0.088

Legend of Table 1

Statistics were calculated from the results of ten couples per cross. Values are means \pm SE. In cross names the first letter represents mother and the second father origin. SA: South Africa strain; B: Benin strain; M: Martinique strain; R: Reunion strain; T: Taiwan strain. Compatibility Rate: percent of couples producing female progeny. Intra-groups: crosses within interbreeding groups (interbreeding group 1: Martinique and South Africa strains and interbreeding group 2: Benin, Reunion and Taiwan strains); Inter-groups: crosses between interbreeding groups. Glm p-value: p-values for the tests of compatibility traits comparison between and within interbreeding groups.

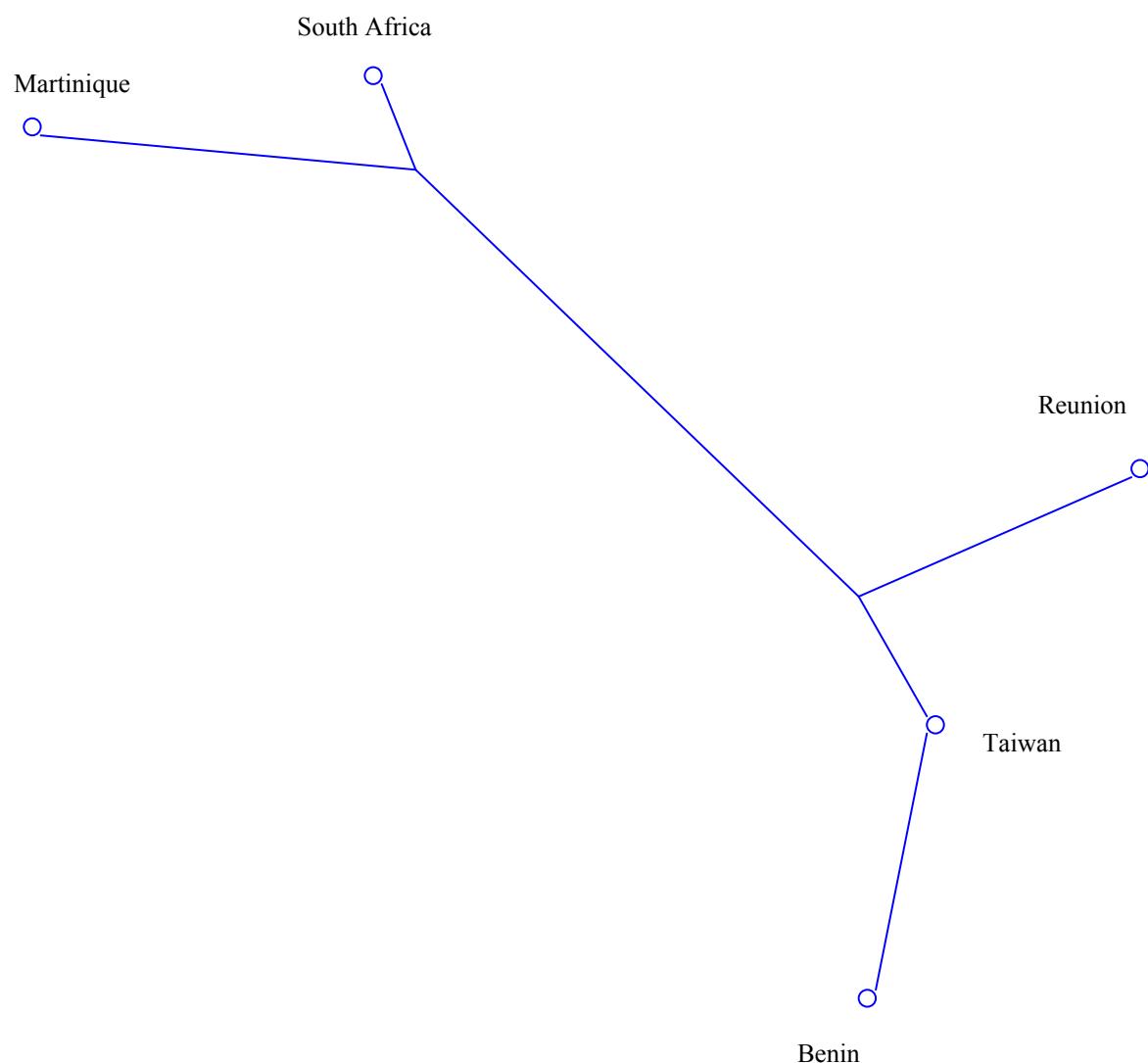


Figure 1. Unrooted tree representing the differentiation between five strains of *Cotesia plutellae*, obtained from reproductive compatibility results (DARwin 3.5).

3.2. Morphometric study

The longest antennae were registered for Martinique males (3.01 mm), followed by Benin (2.89 mm), South Africa (2.82 mm), Taiwan (2.79 mm), and Reunion (2.78 mm) males. For this character, differences between the last three populations were not significant (Table 2). The same ranking was observed for the female antennae length. For all populations, the females had shorter antennae than the males. Benin females were significantly longer (2.64 mm) than the others and South Africa females were the shortest (2.32 mm). Male body length of Benin (2.49 mm) and Martinique (2.46 mm) populations was greater than that of all other males (2.32–2.36 mm). The body length of females was greater than that of the males for the parasitoids from Benin, Taiwan, and Reunion whereas for the Martinique and South African populations both sexes were of similar size. Antennae were as long as the body in females from South Africa (1.03) and Martinique (1.02) strains, and shorter than the body in females from Benin, Reunion, and Taiwan strains (0.92–0.93). The females from Martinique and South Africa had antenna relatively longer than the other females.

The Martinique and South African populations shared morphometric characteristics: females and males had antennae longer than body and both sexes had identical body length. Conversely males from Benin, Reunion, and Taiwan had antenna longer than the body and female body size was significantly larger than that of the males. Although all examined populations exhibited sexual dimorphism, the traits involved varied between populations.

A relationship was observed between morphometric differentiation and reproductive compatibility between the populations. Interbreeding compatibility was higher within than between morphometric groups.

Table 2. Morphometric differentiation between adults of five *C. plutellae* strains

Origin of <i>C. plutellae</i>	South Africa		Benin		Martinique		Reunion		Taiwan		Test F	p-value
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂		
Antennal length	2.37±0.02 f	2.82±0.02 c	2.44±0.01 e	2.89±0.02 b	2.55±0.01 d	3.01±0.01 a	2.35±0.02 f	2.78±0.03 c	2.39±0.02 ef	2.79±0.03 c	35.93***	< 0.001
Body length	2.32±0.02 d	2.33±0.02 d	2.64±0.01 a	2.46±0.02 c	2.50±0.01 bc	2.49±0.02 bc	2.56±0.03 b	2.36±0.03 d	2.56±0.02 b	2.32±0.03 d	31.40***	< 0.001
Antenna/body ratio	1.03±0.01 c	1.22±0.01 a	0.92±0.00 d	1.18±0.01 b	1.02±0.01 c	1.21±0.01 a	0.92±0.00 d	1.20±0.01 a	0.93±0.00 d	1.21±0.01 a	53.88***	< 0.001
Female/Male body length ratio	0.996		1.073		1.004		1.085		1.103		--	--

Values are means ± SE. For “female/male body length ratio,” values are ratios between averages calculated on 80 individuals. Means followed by the same letter in the same line are not statistically different (Student–Newman–Keuls 5%).

3.3. Mitochondrial DNA sequences

Two haplotypes were detected in Cyt *b* sequences differing by only one non-silent base pair substitution at position 311 (<1 %, Fig. 2). The first haplotype was shared by all individuals from Benin, Reunion and Taiwan, and the second was shared by all individuals from South Africa and Martinique. This difference resulted in identical grouping as previously defined through the morphometric variables and reproductive compatibility.

3.4. Detection and prevalence of *Wolbachia* infection

A *Wolbachia* infection (clade B) was detected in 23 of the 75 individuals screened using two PCR amplification tests based on *wsp* gene (approximately 615-bp and 465-bp fragments, respectively). The presence of *Wolbachia* was detected in 66.7 % and 86.7 % of the individuals from South Africa and Martinique, respectively. All individuals from Taiwan, Benin and Reunion were negative for the PCR *Wolbachia* tests. The *Wolbachia* infection defined the same groups as molecular and morphological data: partially infected (Martinique and South Africa) and uninfected (Benin, Reunion and Taiwan).

3.5. Models of reproductive incompatibility

The LRT, AIC corrected and SC methods selected the model with only the factor “molecular differentiation” as the best model explaining interbreeding data whereas the AIC method selected the model including “molecular differentiation” and “*Wolbachia* incompatibility” (Table 3). We underline the high significance of each factor taken individually: (1) male/female body length ratio, $p = 2.38e-12$, (2) female antenna/body length ratio, $p = 1.07e-13$, (3) molecular differentiation, $p = 5.14e-14$, and (4) *Wolbachia* infection status, $p = 3.43e-6$. Combinations of these factors did not improve significantly the likelihood of the data compared to the best one factor model (LRT, AIC corrected and SC test). High correlations between morphometric and molecular factors, and a less important but significant correlation between these “genetic” factors and the *Wolbachia* infection were observed (Table 4).

1	59
Group 1	GAGGACAAATATCATTGAGGAGCTACAGTTATTACAAACTTATTATCTGCTATTCCCTT
Group 2	GAGGACAAATATCATTGAGGAGCTACAGTTATTACAAACTTATTATCTGCTATTCCCTT

60	119
Group 1	ATTTAGGAATTATATTAGTTGAATGATTATGAGGAGGATTTCACTAGTAGATAATGCAACTT
Group 2	ATTTAGGAATTATATTAGTTGAATGATTATGAGGAGGATTTCACTAGTAGATAATGCAACTT

120	179
Group 1	TAAATCGATTTATAGATTACATTTTAATACCTTTGTCTTATTAATAATAGTTATTA
Group 2	TAAATCGATTTATAGATTACATTTTAATACCTTTGTCTTATTAATAATAGTTATTA

180	239
Group 1	TTCATTTAATATTCATGAAAATGGTCAAATAATCCTTACGGCTTAAATAGAAATT
Group 2	TTCATTTAATATTCATGAAAATGGTCAAATAATCCTTACGGCTTAAATAGAAATT

240	299
Group 1	ATTATAAAATTATTTTCAATTATTTACTTTAAAAGATATTGGATTTAATT
Group 2	ATTATAAAATTATTTTCAATTATTTACTTTAAAAGATATTGGATTTAATT

300	359
Group 1	TATTTTAATTCTAATAATTTTATTACTTCAAAATCCATATATATTAGGAGATCCAGAAA
Group 2	TATTTTAATTCTAATAATTTTATTACTTCAAAATCCATATATATTAGGAGATCCAGAAA
	*****↑*****
360	419
Group 1	ATTCATTGAATCTAACCAATAAACACCAATTCAACCAGAATGATATTTT
Group 2	ATTCATTGAATCTAACCAATAAACACCAATTCAACCAGAATGATATTTT

420	459
Group 1	TATTTGCATATACAATTACGGTTCAATTCTAATAAT
Group 2	TATTTGCATATACAATTACGGTTCAATTCTAATAAT

Figure 2. A portion (459 bp) of sequences of *Cyt b* region in the two groups of strains of *Cotesia plutellae* was aligned. Group 1: Martinique and South Africa strains and Group 2: Benin, Reunion and Taiwan strains. Asterisk, same nucleotide. Arrow, mutation.

In order to estimate the dimensionality of the factors associated with reproductive isolation, we performed a principal component analysis of the four factors and repeated a *glm* analysis on the interbreeding data using rotated factors as independent explanatory variables. Factors 1 and 2 accounted for 98.5% of the total variation of the interbreeding matrix. The variation attributed to factors 3 and 4 was marginal. The first and the third axis were a combination of morphometric and DNA variables which can be interpreted as genetic axis. The second axis was mainly represented by the *Wolbachia* infection (Table 5). Significance of each axis was evaluated by the null hypothesis method. A Likelihood Ratio Test performed between nested models suggested that only the first axis explains the interbreeding data while the others axis do not contribute significantly ($LRT, \chi^2 = 0.263, df = 1, NS$). Information added by the *Wolbachia* axis did not increase the model's fit.

Table 3. Statistical comparison between models of reproductive incompatibility between five strains of *C. plutellae*

Models	Deviance	df	LTR	AIC	AICcor	SC
MD	56.12	20	^S	100.97	101.60 ^S	103.15 ^S
WI	97.29	20		142.14	142.77	144.32
MFR	64.48	20		109.33	109.96	111.51
ABR	57.27	20		102.13	102.76	104.31
MD+WI	53.79	19	0.13	100.65 ^S	101.98	103.92
MD+MFR	54.6	19	0.22	101.45	102.78	104.72
MD+ABR	56.12	19	1	102.97	104.30	106.24
WI+MFR	60.17	19	0.04	107.02	108.35	110.29
WI+ABR	54.45	19	0.09	101.3	102.63	104.57
MFR+ABR	57.03	19	0.62	103.88	105.21	107.15
MD+WI+MFR	52.57	18	0.27	101.43	103.78	105.79
MD+WI+ABR	53.78	18	0.9	102.63	104.98	106.99
MD+MFR+ABR	54.59	18	0.7	103.45	105.80	107.81
WI+MFR+ABR	54.18	18	0.61	103.04	105.39	107.40
MD+WI+ABR+MFR	52.57	17	0.94	103.42	107.17	108.88

MD: molecular divergence; WI: *Wolbachia* incompatibility; MFR: male/female body length ratio; ABR: female antenna/body length ratio. Models goodness-of-fit were compared by Likelihood Ratio Test (LRT). Akaike information criterion (AIC). Small simple unbiased AIC (AICcor) and Schwarz criterion (Johnson and Omland. 2004). ^S: Best model Selected by each method.

Table 4. Correlation coefficients between independent variables explaining reproductive compatibility between five *C. plutellae* strains.

	WI	MD	ABR	MFR
WI	--	0.482	0.466	0.444
MD		--	0.990	0.966
ABR			--	0.952
MFR				--

WI: *Wolbachia* incompatibility; MD: molecular divergence; ABR: female antenna/body length ratio; MFR: male/female body length ratio.

Table 5. Coordinates of the principal component analysis of the explanatory variables of reproductive isolation between *C. plutellae* strains

WI: *Wolbachia* incompatibility; MD: molecular divergence; ABR: female antenna/body length ratio; MFR: male/female body length ratio.

	Principal Component 1	Principal Component 2	Principal Component 3	Principal Component 4
WI	0.339	0.940	-0.024	-0.017
MD	0.548	-0.176	0.269	-0.772
ABR	0.544	-0.194	0.535	-0.617
MFR	0.537	-0.218	-0.800	-0.152
Proportion of total variance explained	0.801	0.178	0.013	0.002

4. Discussion

In this paper, we produced evidence that in the case of *C. plutellae*, reproductive isolation between different populations is present and in some crosses seriously affects reproduction. The five populations studied represent two geographically widespread reproductive groups that are partially incompatible with one another. These groups were distinguishable morphometrically and through molecular markers. Reproductive incompatibility was correlated with mitochondrial DNA sequences, morphometric characters, and *Wolbachia* infection status. Incompatibility was statistically explained by morphometric and molecular factors, and *Wolbachia* infection did not add further information. This does not mean *Wolbachia* is not involved in reproductive isolation but probably that its contribution was already taken into account by the genetic factors.

The results of the present work rely on the estimation of reproductive incompatibility based on sex ratio data of a haplodiploid species. A cross was considered incompatible in the absence of female in the progeny. Such a method might underestimate incompatibility because of the low number of progeny produced by some couples. Because the number of progeny is limited by the number of host larvae available, our results are relative to low host density conditions. However, the particular low number of progeny produced in some cases may itself be caused by the incompatibility. A significant lower progeny production in heterogamic than homogamic crosses was observed, showing a negative effect of outcrossing on progeny size. Progeny size was also lower in incompatible than in compatible couples and in between than in within interbreeding groups, which strengthens our hypothesis that incompatibility reduces progeny size. Vavre et al. (2002) showed that *Wolbachia* infection can reduce the progeny size of incompatible crosses by inducing the death of eggs fertilized by incompatible sperm. Studies on the progeny mortality induced by incompatibility between *C. plutellae* populations are needed.

The reproductive isolation seemed best associated with single nucleotide polymorphisms. If this association is confirmed between natural populations from other geographical areas in the future, the mitochondrial region coding for the cytochrome *b* alone could be sufficient for identification of reproductive *C. plutellae* groups. Single nucleotide polymorphism diagnostic techniques could be developed as a PCR–RFLP test. Reproductive compatibility seems to be all-or-none as there was no intermediate level of incompatibility in the different couples. The

sex ratio of compatible couples did not vary between crosses and did not depend on the compatibility of the populations they originated from. Since *Wolbachia* is known to have quantitative effects (Breeuwer and Werren, 1993) this is another argument for the existence of an additional mechanism of reproductive isolation different from *Wolbachia*. We suggest the existence of a genetic mechanism of pre-mating isolation between the groups. In this case, the reproductive compatibility would be determined by the frequency of mating success between populations. We have shown sexual dimorphism to differ between reproductive groups. The role of morphometric characters involved in mating behavior could show interesting perspectives from this work. The existence of morphometric differences between the groups allows us to consider also divergences of genitalia between populations.

Although we have not determined the phenotypic effect of the *Wolbachia* endosymbiont, our results lead to consider cytoplasmic incompatibility induced by *Wolbachia*. Cytoplasmic incompatibility is the most common effect of *Wolbachia*, which has been documented in insect species (Hoffmann and Turelli, 1997). The number of males produced by incompatible couples was about twice higher than that produced by the compatible ones. If indeed the *Wolbachia* carried by the populations studied here causes cytoplasmic incompatibility, this result suggests that at least a part of incompatible fecundation lead to male development (“Male-Development” type (CI-MD)), (Vavre et al., 2001). We have excluded thelytoky induction by *Wolbachia* since infected virgin females did not produce females in our preliminary experiments. Our finding of female production from crosses between infected populations (South Africa and Martinique) would suggest that the two infected populations carry the same strain(s) of *Wolbachia*. However, female progeny could also be the result of crosses between uninfected individuals as both populations were only partially infected. Although *Wolbachia* is the only factor among the four investigated for which the mechanism of reproductive isolation is clearly understood it was not the most significantly correlated to reproductive isolation. The reason might be that *Wolbachia* tests were not performed on the individuals used for interbreeding tests but on later generations. Further studies using the same individuals will allow us to estimate more correctly the relative importance of *Wolbachia* and the genetic factors in the reproductive isolation of *C. plutellae* populations.

Lane’s (1977) definition of a species complex states that it is made of “populations that are reproductively isolated and have separate genetic flow without much associated morphological change.” This study suggests that *C. plutellae* populations might evolve to form a species complex. The recurrent introduction of these populations could therefore affect

directly the evolution of this process. Based on the theory of speciation (reviewed in Schlüter, 2001 and Turelli et al., 2001), we can consider several outcomes: (i) Competition between the reproductive units can lead to the extinction of one of them. (ii) The traits responsible for post-mating isolation can be counter-selected, ultimately leading to the fusion of the population units and preventing the speciation process. (iii) Alternatively, both population units might maintain and coexist in sympatry if each adapted to a different ecological niche. A better knowledge of the geographic distribution of reproductive groups and their ecological differentiation would be useful for a better understanding of the factors driving the speciation process.

When introducing biological control agents, the broadest genetic base possible is recommended by biological control workers as the best guarantee for success. In this light, multiple introductions of the same species of different origins seems to be the best recipe. Our investigations show that this can actually be a roadmap to failure. In the case of *C. plutellae*, several introductions have been listed as failures (Chaves et al., 1993, Cock, 1985, Cordero and Cave, 1992, Monnerat, 1995, Waterhouse and Norris, 1987 and Waterhouse, 1992). Upon close examination, many of these failures might be attributed to reproductive incompatibility of the strains selected for introduction or of the introduced strain with an already present one.

There is a need to improve the scientific basis for introductions of biological control agents through the selection of strains. The introduction of a population reproductively incompatible with the local population may cause a long term reduction of the levels of control of the pest (Mochiah et al., 2002 and Stouthamer et al., 2000). It is therefore important for any biological control attempt to determine the reproductive compatibility between local and introduced populations or between different source populations of the natural enemy selected. This is also important for the establishment of laboratory cultures because mixing of different populations could result in a severe reduction of population growth in the laboratory.

Our results suggest introductions of *C. plutellae* deserve special attention as far as source populations and their reproductive compatibility are concerned. A simple method using morphological and molecular markers was evaluated to select suitable candidates for testing before introduction and manage mixed laboratory strains. Further studies are needed to improve the robustness of these markers and better understand the underlying mechanisms of reproductive isolation in *C. plutellae*, as well as the possible ecological differentiation between the two groups identified in this study.

Article 2. Reproductive isolation between *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) populations: relative importance of genetics and *Wolbachia* endosymbionts

*Claudia Rincon, Bernhard Löhr, Hélène Henri, Dominique Bordat, Christophe Tertois
Stéphane Dupas*

En préparation, prêt à soumettre

Abstract

Reproductive isolation between populations of biocontrol agents can reduce number or viability of offspring resulting from incompatible crosses between local and (or between) introduced genotypes, thereby be responsible for the failure of some biological control introductions. The parasitoid *Cotesia plutellae* has been widely introduced with the aim to control the diamondback moth, *Plutella xylostella*. However, not all introductions and augmentations have been successful. The aim of this work was to determine the extent, the pre or postmating nature and the effect of *Wolbachia* and genetic factors on the reproductive isolation between three *C. plutellae* populations originating from Taiwan, Benin and South Africa, candidates for introduction in Kenya. No premating isolation mechanisms were observed under our experimental conditions. The results showed only postmating incompatibilities between populations due to both genetic and symbiotic factors. The additive statistical model suggests genetic factors reduced compatibility by 74% and *Wolbachia* infection reduced compatibility by 21%. *Wolbachia* infection was detected in the South African population only. A sequence of part of the *wsp* encoding gene was identical to one previously extracted from *C. plutellae* Martinique, indicating only one strain of this bacterium is infecting highly distant *C. plutellae* populations. Our results emphasise the importance of verifying reproductive compatibility between introduced and local *C. plutellae* populations (or between introduced populations) before biological control operations.

Keywords

Cotesia plutellae, reproductive compatibility, genetic factors, postmating isolation, *Wolbachia*, *Plutella xylostella*

1. Introduction

Species used in biological control are composed of populations that could be genetically differentiated and even reproductively isolated (Rincon et al., 2006). Such differences can have important implications for biological control introductions, both because of the differences in life history traits they may be associated with and because of reproductive incompatibility between local and (or between) introduced genotypes affecting number and viability of progeny (Stouthamer et al., 2000; Mochiach et al., 2002; Wu et al., 2004; Vickerman et al., 2004; Rincon et al., 2006).

Under limited gene flow between populations, natural divergent selection, sexual selection, and genetic drift can all contribute to genetic differentiation, and eventually lead to reproductive isolation between populations. Pre - and postmating and pre - and postzygotic isolation mechanisms can arise as a result of genetic divergence in allopatry (Rice & Hostert, 1993). Premating isolation results from population differentiation in traits such as sexual behaviour, habitat preference and seasonal breeding (Turelli, 2001). The introduction of a premating isolated population may have a similar effect as introducing a new species into the habitat, which shares hosts and resources, leading to direct or indirect competitive interactions. The competitive exclusion principle (CEP) (Volterra, 1926; Levin, 1970) states that, under competition, both reproductive units cannot coexist and one will displace the other. This displacement could endanger other species in the community, through indirect effects (for a discussion on indirect effects of introductions see Waage, 2001).

Postmating prezygotic isolation results from the incompatibility between gametes of differentiated populations (i.e. gametic or gametophytic isolation, see Markow, 1997). Hybrid offspring cannot be produced. Conversely, in the postmating-postzygotic isolation, hybrids are produced, but their viability and fertility are reduced (i.e. hybrid breakdown, see Turelli et al., 2001). In both cases, postmating prezygotic and postmating postzygotic isolation will lead to incompatible matings between differentiated populations and a reduction in fertility and (or) survival which may have implications for the level of pest control (see Stouthamer et al., 2000 and Mochiach et al., 2002). There is no theory for predicting the nature of isolating mechanisms during allopatric speciation. The determination of which forms of reproductive isolation evolved first, and which forms evolved only after other forms had already prevented gene flow is more of an empirical problem (Turelli et al., 2001). However, since the type of reproductive isolation could vary in terms of its consequences on population growth rate when mixing isolated populations, the identification of the nature of reproductive barriers and

the understanding of the evolutionary processes that drive the differentiation between populations may prevent undesirable outcomes of biocontrol introductions.

Wolbachia is a group of intracellular *Rickettsia*-like bacteria present in a wide range of insect species (20-70 %), isopods, mites and nematodes (for a review see Stouthamer et al., 1999). This maternally transmitted bacterium can manipulate the host reproduction in a way that enhances its spread in the host population. *Wolbachia* increases the proportion or the fitness of infected females and thereby, its own fitness by inducing different mechanisms: cytoplasmic incompatibility (CI), thelytokous parthenogenesis, male killing, and feminization of males (Werren & O'Neill, 1997). CI is the most commonly reported effect in insects whereby uninfected females mated with infected males cannot produce offspring. Werren (1997) described CI as a “modification-rescue” system. *Wolbachia* modifies the sperm, leading to the destruction of spermatozoid chromosomes after fecundation. The egg can rescue the modification of the sperm only when hosting the same strain of the bacterium which then allows normal zygote production. In the particular case of haplodiploid species, the eggs fertilised by incompatible sperm may either die (F-M, female mortality) or develop into males if their haploidy is restored (M-D male development) (Vavre et al., 2001). Since in both cases premating barriers may be absent and no hybrids are produced, CI-*Wolbachia* infection acts as a postmating isolator between populations.

The parasitoid *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) is one of the principal natural enemies of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae). This cosmopolitan pest species has developed resistance to most insecticides, including microbial *Bt* (*Bacillus thuringiensis*, Berliner) products (Cheng, 1988; Tabashnik et al., 1990 and 1997; McGaughey & Whalon, 1992; Sanchis et al., 1995). Current research efforts are therefore focusing on the development of alternative management methods, such as biological control with parasitoids. Among them *C. plutellae*, a solitary larval endoparasitoid, have been introduced in many countries. The criteria for selecting a population for introduction are variable but emphasis is given to the similarity of climatic conditions in the region of origin of the population and the site of release. Laboratory and greenhouse studies are used for testing climatic adaptation and selecting suitable candidates for biological control (Pak & van Lenteren, 1988). Several biological characteristics are used to assess the potential efficiency of a parasitoid, among them searching ability, fecundity, longevity and sex ratio (Bourchier & Smith, 1996; Dutton et al., 1996; Thomson & Hoffmann, 2002; Lim & Hoy, 2005). Recently, biological control research has begun to

consider the importance of reproductive compatibilities between populations, induced either by *Wolbachia* infection or by genetic factors (cryptic species), as a criterion for selecting potential biocontrol agents (Stouthamer et al., 2000; Mochiach et al., 2002; Wu, 2004; Vickerman et al., 2004; Rincon et al., 2006).

C. plutellae forms at least two population aggregates, distinguished by genetic factors statistically associated to reproductive isolation. Sexual dimorphism between population aggregates, possibly related to premating isolation, and differences in *Wolbachia* infection status were also reported (Rincon et al., 2006). However, the effect of *Wolbachia* infection on *C. plutellae* reproductive compatibility was not demonstrated in this work, since adding this factor to a genetic model did not improve significantly the prediction of reproductive incompatibility.

Our aim in the present study was to further investigate the reproductive isolation between three *C. plutellae* populations, candidates for introduction in Kenya, where the parasitoid is not present. The pre or postmating nature of the reproductive isolation was addressed and the effect of *Wolbachia* and genetic factors were clarified.

2. Materials & Methods

2.1. Insect rearing

Insects were collected in Benin (Cotonou area), Taiwan (around Shahua) and South Africa (Brits, Gauteng Province). Benin population was reared for 6-8 generations at CIRAD (Montpellier, France) and Taiwan and South Africa populations were reared during one year at ICIPE (Nairobi, Kenya), and for two generations at CIRAD (Montpellier, France) before the experiments. Rearing procedures are detailed in Rincon et al. (2006).

2.2. Crossing experiments

Crosses were performed between the three *C. plutellae* populations in both directions. Control (i.e. homogamic) crosses, composed of mating pairs from each population, were also performed. Ten couples were used for each combination. Single pairs of virgin individuals were kept in plastic boxes (8 cm diameter × 6 cm height) for 24 h. They were fed on honey. The male was removed the next day and the female was allowed to oviposit on 10-12 L3 host larvae for 24 h. Host larvae were reared on cabbage leaves and observed daily until parasitoid cocoon formation. Adults emerging from cocoons were counted and sexed. As another control, individual virgin females from the three populations were allowed to oviposit for 24 h

on 10 -12 L3 host larvae, to confirm arrhenotoky. The virgin female assays were not included in statistical analyses. Fertility of F1 females obtained was tested under the same experimental conditions.

2.3. Mating success

Mating success was estimated from the direct observation of the spermatozoid presence in the genital duct and spermatheca of females after the oviposition period. Females were removed, anesthetised and dissected under physiological saline solution (160 mM NaCl, 3.3 mM KCl, 1 mM CaCl₂).

2.4. Detection of *Wolbachia* infection and sequencing of *wsp* gene

The presence of *Wolbachia* was tested on each individual used in the crosses by PCR test using *wsp* gene *Wolbachia*-specific primers. The *wsp* gene is a single copy gene, generally highly variable, coding for an outer membrane protein of *Wolbachia* (Zhou et al., 1998). Total DNA was extracted from whole insects, in a 10% BioRad Chelex 100 Resin solution (see Rincon et al., 2006). Two fragments of the gene encoding *wsp* were amplified, one using 81F (5' TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAC) and 691R (5' AAAAATTAAACGCTACTCCA) generalist primers and the other using 81F and the clade B-specific 522R (5' ACCAGCTTTGCTTGATA) reverse primer (Zhou et al., 1998). Quality of DNA templates for PCR was checked by the positive amplification of the *Cytochrome b* gene using the CB1-CB2 primer couple. PCR cycling conditions were as in Rincon et al. (2006). Amplified products were purified with the QIAquick purification kit (Qiagen, S.A.) and sequenced in both directions on an automated sequencer (ABIPrism 373, Applied Biosystems), using the amplification generalist primers. The consensus sequences obtained were aligned manually, using MacClade 4.05 (Maddison & Maddison, 2001). Individuals of a Martinique population, preserved in alcohol from an earlier work (Rincon et al., 2006), were also investigated and compared to the *wsp* sequence of the South African population.

2.5. Statistical procedures

The haplodiploid reproductive system of *C. plutellae* led us to estimate reproductive compatibility by the presence of females (i.e. hybrids) in the progeny of each couple. Couples producing at least one female were considered reproductively compatible and couples producing only males were considered reproductively incompatible. Different factors of

variation in the proportion of compatible couples, progeny size (males, females and total) and sex ratio of the progeny were analyzed, depending on the origin and the genetic status of the parents (see genetic groups defined in Rincon et al., 2006). Analyses of Variance were performed on Generalised Linear Models (*glm*) outputs. Different residual distribution models were used for the *glm* analyses, depending on the nature of the data. Binomial distribution was used for testing differences in sex ratio and in proportion of compatible couples. Poisson distribution was used for differences in progeny size. Overdispersion or underdispersion within crosses were tested using Chi-squared test on the residual deviances. Since overdispersion tests were significant for some variables (progeny size, female and male production and sex ratio), a dispersion parameter was included in all the analyses concerning the traits (Agresti, 1996).

The variable (CI) predicting *Wolbachia* induced incompatibility was calculated for each couple, with a value of 1 when the male was infected and the female uninfected (*Wolbachia* incompatible couples) and 0 in all other situations (*Wolbachia* compatible couples). Each couple was also given a value for the genetic differentiation variable (GD). Couples from the same genetic group were given a value of zero (genetically compatible couple) and couples from two different genetic groups were given a value of 1 (genetically incompatible couple). The effects of CI, GD and CI + GD on reproductive incompatibility were estimated in a Generalised Linear Model with binomial response and logistic link function. The model fits were compared by the Akaike Information Criterion (AIC) (Akaike, 1973).

All statistical analyses were realised using the “R” statistical program (the R development core team, 2003).

3. Results

3.1. Reproductive compatibility between populations

The results of the different crosses are given in Table 1; the statistics are detailed in Table 2. All evaluated traits varied between crosses. Important variations were observed in compatibility (between 0.1 and 1), in the proportion of females (between 0.06 and 0.59), in the number of adults (between 7.2 and 10.6), males (between 3.4 and 9.6) and females (between 0.5 and 5.3) produced (Table 1). All variations were significant between crosses (Table 2). The South African population was partially reproductively isolated from the others (interpopulation compatibility involving South Africa population equal or below 0.2). The compatibility between the Benin and Taiwan populations, of 0.6 and 0.8 depending on the

direction of the cross, were statistically similar to the compatibility revealed in homogamic crosses (ANOVA, binomial $glm \chi^2 = 3.052$, $df = 4$, NS). Two reproductively compatible groups were thus identified: the first composed by the Benin and Taiwan populations and the second by the South Africa population.

Table 1. Traits of reproductive compatibility between three *Cotesia plutellae* populations

Cross	Compatibility index*	Number of progeny		Sex ratio	
		females	males	average	compatible couples only
SA x SA	0.7	2.1±0.68	5.8±1.42	0.47±0.13	0.54±0.10
SA x B	0.2	1.5±1.02	7.4±1.29	0.16±0.11	0.80±0.02
SA x T	0.1	0.7±0.70	8.7±0.98	0.08±0.08	0.78
B x SA	0.1	0.5±0.50	6.9±1.29	0.06±0.06	0.56
B x B	1	4.1±0.75	3.8±0.93	0.54±0.05	0.54±0.05
B x T	0.6	3.0±1.04	7.0±0.97	0.27±0.09	0.46±0.08
T x SA	0.2	1.0±0.68	9.6±0.90	0.10±0.07	0.52±0.03
T x B	0.8	5.3±1.31	3.4±0.51	0.59±0.09	0.67±0.06
T x T	0.7	3.9±1.08	4.0±0.77	0.42±0.10	0.60±0.06

Statistics were calculated from ten couples per cross. Values are means ± SE. In cross names, the first letter represents origin of the mother. SA: South Africa; B: Benin; T: Taiwan. Compatibility: proportion of couples producing female progeny.

The number of progeny differed slightly but significantly between crosses. However, this trait was not significantly different between homogamic and heterogamic couples as well as between intra- and inter-genetic group couples (Table 2). There was also no significant effect of the female origin on progeny size (ANOVA, poisson $glm \chi^2 = 0.20$, $df = 2$, NS). Compatible and incompatible couples produced similar number of progeny in all crosses. However, the sex ratio differed significantly. The proportion of females was higher in homogamic than heterogamic crosses and within genetic group than between genetic group. Compatible couples produced similar sex ratios in all crosses.

The number of males in the progeny differed significantly between crosses. It was lower in homogamic crosses than in heterogamic crosses and within genetic groups than between genetic groups. Compatible couples produced similar number of males in all crosses. Number of male offspring was significantly smaller in compatible couples than in incompatible couples.

The number of female offspring was not significantly different between homogamic and heterogamic crosses, but it was higher within genetic groups than between genetic groups (Table 2). F1 females of all crosses were fertile.

3.2. Mating activity and sperm transfer

Under the experimental conditions of this work, all 90 couples of homogamic as well heterogamic crosses mated and transferred sperm successfully.

3.3. Effects of *Wolbachia* infection and genetic factors on reproductive compatibility

Generalist and clade B-specific *wsp* PCR tests showed that the population originating from South Africa was partially infected by *Wolbachia* (39/40 infected individuals) while the other populations were completely free of infection.

An approximately 615-bp fragment of the *Wolbachia* *wsp* gene, extracted from two individuals screened from of the South Africa population, was amplified and compared with two sequences obtained from a Martinique population. All four sequences were identical (GenBank accession no. [759170](#)).

Couples predicted to be cytoplasmically incompatible due to *Wolbachia* infection produced significantly more males and less females than other couples (ANOVA, poisson *glm* $\chi^2 = 10.33, df = 1, p < 0.002$; $\chi^2 = 12.06, df = 1, p < 0.001$, respectively).

Compatibility between populations was better explained by genetic differentiation than by *Wolbachia* infection (*Genetic* AIC= 452.91; *Wolbachia* AIC = 506.51). However, both factors had an effect since the two factors model resulted in a significantly better fit than each one factor models (*Genetic + Wolbachia* AIC = 447.96). Table 3 shows the compatibility and sex ratio predicted by the two factors model for the different crosses. In the absence of *Wolbachia*, the genetic factors were predicted to reduce the compatibility by 74% (Genetic factors penetrance) whereas in the absence of genetic factors, the cross between *Wolbachia*

infected males and uninfected females was predicted to reduce compatibility by only 21 % (*Wolbachia* penetrance).

Table 2. Statistical matrix of traits related to reproductive compatibility between three *Cotesia plutellae* populations.

Tested effect	Compatibility (binomial)	Sex ratio (binomial)	Number of offspring		
			Total (Poisson)	males (Poisson)	females (Poisson)
Cross	$\chi^2 = 36.43$ $df = 8$ $p < 0.001$	$\chi^2 = 39.99$ $df = 8$ $p < 0.001$	$\chi^2 = 12.78$ $df = 8$ $p = 0.05$	$\chi^2 = 39.62$ $df = 8$ $p < 0.001$	$\chi^2 = 23.84$ $df = 8$ $p < 0.003$
Homogamic vs. heterogamic	$\chi^2 = 14.66$ $df = 1$ $p < 0.001$	$\chi^2 = 9.14$ $df = 1$ $p < 0.002$	$\chi^2 = 1.23$ $df = 1$ NS	$\chi^2 = 13.71$ $df = 1$ $p < 0.001$	$\chi^2 = 3.66$ $df = 1$ NS
Within genetic group vs. between genetic group	$\chi^2 = 32.59$ $df = 1$ $p < 0.001$	$\chi^2 = 30.42$ $df = 1$ $p < 0.001$	$\chi^2 = 1.23$ $df = 1$ NS	$\chi^2 = 24.79$ $df = 1$ $p < 0.001$	$\chi^2 = 18.70$ $df = 1$ $p < 0.001$
Cross of compatible couples	---	$\chi^2 = 13.13$ $df = 8$ NS	$\chi^2 = 5.258$ $df = 8$ NS	$\chi^2 = 8.52$ $df = 8$ NS	---
Compatible vs. incompatible couples	---	---	$\chi^2 = 1.71$ $df = 1$ NS	$\chi^2 = 35.33$ $df = 1$ $p < 0.001$	---

Chi square values were obtained from ANOVA on generalized linear model outputs, corrected for overdispersion for sex ratio and progeny size. Residual distributions are given in brackets.

Table 3. Compatibility and sex ratio predicted by the generalized linear model “genetic + *Wolbachia*” factors for crosses between different *Cotesia plutellae* populations.

Genetic group (GD)	Male <i>Wb+</i> × Fem <i>Wb-</i> (CI)	Compatibility	Sex Ratio
= (0)	No (0)	0.735	0.452
= (0)	Yes (1)	0.581	0.238
≠ (1)	No (0)	0.190	0.141
≠ (1)	Yes (1)	0.105	0.058

GD: genetic differentiation factor. CI: cytoplasmic incompatibility factor. Compatibility: proportion of couples producing at least one female. Sex Ratio: proportion of female offspring.

4. Discussion

Three of the five *C. plutellae* populations studied by Rincon et al. (2005) were further investigated for their reproductive compatibility. The results from the present work confirm the existence of at least two compatible population aggregates that are partially incompatible with one another. However, in contrast to the earlier findings where *Wolbachia* infection did not have significant additional effect to the genetic factors on reproductive incompatibility, in this study we demonstrate that the *Wolbachia* infection has significant additional effect, yet relatively smaller, than genetic factors. The reason probably is that in the earlier study, *Wolbachia* had been estimated at the population level and the infection status of each individual used for the experiments was unknown. The estimated penetrance of *Wolbachia* inducing reproductive incompatibility (i.e. the likelihood a PCR detected incompatible couple will be incompatible) was more than twice less than that of the genetic induced reproductive incompatibility. Nevertheless, the penetrance of factors was estimated by a statistical model assuming additive interactions between genetic and *Wolbachia* factors. The non additive interactions were not tested since the case where couples are genetically similar but

Wolbachia incompatible did not occur in the parasitoid couples analysed. Similarly, *Wolbachia* effects in the presence or absence of genetic effects could not be compared. Consequently, our estimations of penetrance hold on additivity hypothesis.

Postmating reproductive isolation between *C. plutellae* populations is shown in this study. Postmating isolation was also reported between the closely related species *Trichogramma minutum* Riley and *T. platneri* Nagarkatti (Stouthamer et al., 2000) and between *Cotesia sesamiae* (Cameron) and *C. flavipes* Cameron (Kimani, unpublished data). In these three cases, no premating barriers were detected in laboratory. Under our experimental conditions all couples mated and transferred sperm successfully. However, several factors that might result in assortative mating in the field were not considered in our laboratory study, for instance: (i) female preferences, arbitrary preference for male characteristics that are independent of postmating isolation traits; (ii) adaptive mate choice, female recognition of traits involved in postmating isolation and mating preference for postmating compatible mates (Vala et al., 2004); (iii) ecological and behavioural differentiation between incompatible populations, habitat isolation, seasonal breeding, divergence in sexual pheromones; (iv) sib-mating, crosses between sibs will always be compatible. Factors possibly involved in premating isolation may reduce the detrimental effect that postmating isolation mechanisms can have on population growth. They were not elucidated by our study and their relationship to postmating traits remains unknown for *C. plutellae*.

The postmating reproductive isolation is likely to have evolved in allopatry since postmating isolation mechanisms have fitness costs in sympatry (i.e. fertility reduction due to incompatible matings). Researchers have repeatedly shown that premating isolation tends to be stronger between sympatric than between allopatric sibling species with the same genetic divergence (Noor, 1999; Coyne & Orr, 1989). Although the phylogeography of *C. plutellae* is unknown and confused by the frequency of non-referenced deliberate introductions worldwide, the absence of premating isolation between populations of this species suggests that they have evolved in separate allopatric populations.

All compatible couples produced similar sex ratios while all incompatible couples produced only male offspring. Since there was no reduction in the progeny size because of the incompatibility, these results suggest that at least part of the female zygotes of incompatible couples develops into males. This development into males was denominated "Male-Development" type (CI-MD) by Vavre et al. (2000) for *Wolbachia* induced incompatibilities in other haplodiploid species. As Breeuwer & Werren (1990) have shown for *Nasonia* spp., in

the case of *Wolbachia* CI-MD, the paternal chromosomes are destroyed after incompatible fecundations, thereby restoring haploidy. In the case of genetically induced incompatibilities, the mechanism remains unknown. Several hypotheses can be considered: (i) the females do not use the incompatible sperm to fertilise their eggs; it is ineffectively transferred or stoked (ii) the fertilization is prevented by biochemical incompatibilities between sperm proteins and receptors in the egg (see Palumbi, 1999) (iii) the fertilization takes place but the egg can restore its haploidy by destruction of the paternal chromosomes and develops into a male (as in *Wolbachia* CI). In any case, the isolations seem associated to gametic factors (i.e. prezygotic incompatibilities).

Another argument reinforcing the prezygotic isolation hypothesis is that no hybrid breakdown was observed in our experiments: no increased offspring mortality in incompatible crosses or reduction in hybrid fertility was recorded. Although postmating isolation is mainly documented as hybrid breakdown (i.e. postzygotic isolation), we suggest that in the case of our *C. plutellae* populations, postmating incompatibility is prezygotic. Theory predicts that postmating prezygotic isolation mechanisms may be important in speciation (Servedio, 2001; Howard & Gregory, 1993; Markow, 1997; Price et al., 2001; Knowles et al., 2004). Males are expected to evolve seminal fluid components that are more effective in inducing oviposition and postponing female remating, while females are expected to adapt to counteract toxic effects of ejaculates. These conflicting pressures are expected to evolve differently between allopatric populations (Markow, 1997). Such conflicts may explain the evolution of postmating prezygotic isolation observed between *C. plutellae* populations.

This study confirms that the mechanisms responsible for isolation appear to be all or none at the individual level: the couples either produced a “normal” sex ratio, or produced only males. On the other hand, at the population level, *Wolbachia*-induced and genetic-induced postmating isolation combined did not lead to complete incompatibility.

Wolbachia can be responsible for bidirectional cytoplasmic incompatibilities when the host is infected by different populations of the bacterium (Werren, 1997). The *wsp Wolbachia* gene sequence from the two localities where *Wolbachia* has been detected, South-Africa and Martinique, were identical. Among the three populations studied here and the five studied in the earlier work by Rincon et al. (2006), only one *Wolbachia* strain was identified. As these populations cover a big proportion of the world distribution of *C. plutellae*, we suggest that multiple infections of populations and bidirectional cytoplasmic incompatibilities due to infections by different strains are not common in *C. plutellae*.

Our results showed postmating prezygotic isolation between *C. plutellae* populations, which causes important fitness costs for heterogamic crosses. Both genetic and symbiotic factors are demonstrated to be involved. Failure to check for this in the case of multi-population introductions for biological control will certainly severely reduce population growth of the biocontrol agents and may eventually prevent establishment. This is consistent with field observations of population decline following the introduction of exotic populations of *C. plutellae* in already colonised areas (Waterhouse & Norris, 1987; Waterhouse, 1992; Monnerat, 1995; Chaves et al., 1993; Cordero & Cave, 1992; Cock, 1985). We underline the importance of verifying reproductive compatibility, especially postmating between introduced and local populations or between candidate populations for introductions.

Note. Etude des différences génétiques entre populations de *Cotesia plutellae* (Hymenoptera : Braconidae) liées aux gènes viraux

Claudia Rincon, Bernhard Löhr, Dominique Bordat, Stéphane Dupas

Article en cours de rédaction

1. Introduction

La structure génétique des populations peut être définie comme la distribution de la variabilité génétique au sein de ces populations. Elle est le produit de plusieurs forces évolutives que sont la migration, la mutation, la dérive génétique et la sélection naturelle. La compréhension de la structure génétique des populations à l'aide de marqueurs moléculaires est de plus en plus utilisée avec des objectifs très diverses : la reconstitution de l'histoire phylogéographique des populations au sein des espèces, l'estimation de paramètres de dynamique des populations tels que le taux de migration, la recherche de marqueurs sélectionnés, ou de races géographiques.

Les populations du parasitoïde *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) forment deux groupes différenciés par une mutation non-silencieuse sur le gène mitochondrial codant pour le *Cytochrome B* ainsi que par des caractères morphométriques associés au dimorphisme sexuel. Le premier groupe est composé des populations originaires de Martinique et d'Afrique du Sud, et le second des populations originaires du Bénin, de la Réunion et de Taïwan (Rincon et al. 2006). Les résultats suggèrent que l'interfécondité entre ces deux groupes de populations est limitée par des mécanismes d'isolements reproductifs partiels post-copulatoires d'origine génétique et infectieux. Des différences dans le comportement des individus suggèrent une différenciation écologique entre les groupes (voir Chapitres III, IV et V). Les distances géographiques entre ces populations constituent probablement aussi un facteur d'isolement.

L'objectif de cette partie du travail a été d'appréhender la diversité génétique des populations étudiées précédemment à l'aide d'un marqueur d'origine virale intégré à l'ADN nucléaire (polydnavirus) du parasitoïde, qui s'est avéré plus informatif que celui utilisé précédemment (*Cytochrome B*). Cette étude permettra possiblement de résoudre le statut taxonomique des groupes de populations et de déterminer si les différences génétiques sont

corrélées soit à des distances géographiques entre ces populations soit à la différentiation écologique précédemment caractérisée.

Les PTP (Protein Tyrosine Phosphatase) sont des protéines impliquées dans la transduction du signal intracellulaire. Deux formes sont connues : les formes de type récepteur, contribuent à la régulation de l'adhésion entre cellules, à la croissance des neurones et à la construction des réseaux d'axones et les formes de type cytoplasmique qui contribuent au contrôle de la survie cellulaire (Chen et al. 2003, Stoker & Dutta 1998). Des études sur le système hôte-parasitoïde *Lymantria dispar* - *Glyptapanteles indiensis* suggèrent que l'expression du gène PTP chez l'hôte est importante dans les étapes précoce du parasitisme. Des PCR quantitatives ont montré que l'expression du gène atteint un pic durant les deux heures qui suivent le parasitisme pour diminuer ensuite (Chen et al. 2003). La protéine virale PTPdelta, utilisée comme marqueur dans notre étude est exprimée dans le système nerveux et les hémocytes de l'hôte *Manduca sexta* lors du parasitisme par *Cotesia congregata* (Provost et al. 2004).

2. Matériels et Méthodes

2.1 Matériel Biologique

Des larves de *Plutella xylostella* ont été récoltées au Bénin (aire de Cotonou) et en Martinique (localité de Lamentin), Taïwan (aire de Shahua), Afrique du Sud (Brits, Province de Gauteng), l'île de La Réunion (localité de Piton Hyacinthe) et en Autriche. Les larves ont été prélevées sur des champs cultivés de chou pommé (*Brassica oleracea* subsp. *capitata* L.). Les parasitoïdes émergeants des larves parasitées ont été identifiés par G. Delvare (CIRAD) comme appartenant à l'espèce *C. plutellae*. La procédure de récolte est détaillée dans Rincon et al. (2006). Ces populations ont été étudiées car elles couvrent une large zone géographique et parce que la présence du parasitoïde dans ces zones est supposée y être naturelle (aucune introduction n'est reportée dans la littérature). Les populations d'Autriche et d'Afrique du Sud présentent la particularité de provenir de régions considérées comme les zones d'origine possibles de l'espèce hôte *P. xylostella*. Pour de nombreux auteurs, *P. xylostella* est considérée originaire de la région euro-méditerranéenne, où l'on trouve un grand nombre d'espèces de parasitoïdes et d'où sont originaires les principales plantes cultivées de la famille des Brassicacées (Balachowsky 1966). Pour Kfir (1998) en revanche, *P. xylostella* pourrait être originaire d'Afrique du Sud où se trouvent de nombreux parasitoïdes spécifiques et aussi de nombreuses espèces de Brassicacées sauvages.

2.2 Analyse moléculaire

L'extraction de l'ADN total a été réalisée à partir d'insectes entiers selon la méthode utilisée dans Rincon et al. (2006). Un fragment de 926 paires de base du gène codant pour la protéine Tyrosine Phosphatase delta (*CcPTPdelta*) a été amplifié avec des amorces désignées à partir des séquences de *Cotesia congregata* (Provost et al. 2004) C26orf2_7F 5'GCAAACAAAATGGCACATGA3' et C26orf2_933R 5'TCGGACCGGACTTGTCTTA3'. Les conditions de PCR (*polymerase chain reaction*) ont été les suivantes: une dénaturation initiale de l'ADN pendant 5 min à 94 °C; 40 cycles : à 94 °C pendant 50 s, 50 °C pendant 1 min 20 s, 72 °C pendant 1 min 20 s et une période d'extension finale de 10 min à 72 °C. Le mélange de réaction contenait 1,5 mM MgCl₂, 0,4 µM de chaque amorce, 0,4 µM de dNTPs, et 1 µL d'ADN plus 1 µL de polymérase Promega Taq pour un volume final de 25 µL.

Une migration des produits amplifiés a été effectuée sur gel d'agarose à 1,5% avec un marqueur de taille. Après révélation dans le BET, la bande dont la taille correspondait à celle du fragment recherché a été soigneusement découpée. L'ADN a été ensuite purifié sur membrane de silice à l'aide du kit de purification QLAquick (QIAGEN) et l'ADN séquencé dans les deux sens, en utilisant les deux amorces d'amplification, à l'aide d'un séquenceur automatique. Les séquences consensus obtenues ont été alignées manuellement à l'aide d'un Macclade version 4.05 (Maddison & Maddison 2002).

2.3 Analyse phylogénétique

Deux arbres consensus ont été obtenus à partir des méthodes du maximum de parcimonie et d'inférence bayésienne. En maximum de parcimonie, l'arbre de consensus a été déterminé en retenant les nœuds soutenus dans plus de 50% des arbres, sur un bootstrap de 1000 recherches heuristiques de 1000 pas additionnels en addition simple. L'analyse en parcimonie a été réalisée sur le logiciel PAUP 4.0.

L'analyse bayésienne a été effectuée en deux étapes. Dans une première étape, le modèle de substitution de nucléotides qui s'ajustait le mieux aux séquences a été sélectionné à l'aide du logiciel Modeltest (Posada & Crandall 1998). Ce logiciel a permis de choisir parmi 56 modèles de substitution de nucléotides alternatifs comprenant différents paramètres de substitution et de fréquence des bases. La sélection du modèle a été réalisée par le test du rapport de vraisemblance (*Likelihood Ratio Tests*, LRT) et par la comparaison des valeurs d'AIC (Akaike Information Criterion) (revu par Johnson & Omland 2004). La méthode LRT a

sélectionné le modèle TrN+G (Tamura-Nei+Gamma distribution) qui tient compte des fréquences des bases AT et GC dans les séquences et assume des taux de tranversion constants et des taux de transition variables (Tamura & Nei, 1993). La méthode AIC a sélectionné le modèle GTR+G (General Time Reversible + Gamma distribution). Ce modèle tient aussi compte des fréquences des bases AT et GC dans les séquences et assume une matrice de substitution symétrique plus complexe à six paramètres (Tavaré 1986). Les deux méthodes supposent des taux de substitution qui suivent une distribution Gamma le long des sites.

Dans une deuxième partie de l'analyse, les relations phylogénétiques entre les populations ont été déterminées par inférence Bayésienne. Deux millions de générations ont été réalisées sur quatre chaines chaudes. Les paramètres de substitution ont été estimés pour le modèle GTR+G, car le modèle TrN+G n'est pas disponible dans le logiciel Mr. Bayes. En outre, ce logiciel est robuste vis-à-vis du sur-paramétrage du modèle GTR par rapport au TrN.

Une séquence du même fragment obtenue à partir d'un individu de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) a été utilisé comme groupe externe (Drezen & Dupas, manuscrit en préparation).

3. Résultats et discussion

Seize adultes de *C. plutellae* issus de six populations ont été étudiés. Un fragment de 926 paires de base a été séquencé.

La Figure 1 montre l'arbre de consensus avec les nœuds supportés par plus de 50% d'un échantillon d'arbres retenus toutes les mille générations de l'analyse bayésienne (au total 1600 arbres).

L'analyse phylogénétique met en évidence l'existence d'un groupe monophylétique formé par les individus des populations du Bénin, de Réunion et de Taïwan, soutenu à 95% par l'analyse bayésienne. Un deuxième groupe monophylétique constitué des individus d'Autriche et d'Afrique du Sud, soutenu à 55%, est aussi mis en évidence. L'individu originaire de la Martinique apparaît comme n'appartenant à aucun des ces groupes.

Les relations phylogénétiques obtenues ne montrent aucune relation avec les distances géographiques entre les populations. Ceci est probablement du à l'effet des introductions multiples à des fins de lutte biologique qui ont brouillé l'histoire phylogéographique de l'espèce. En revanche les résultats sont en bon accord avec les résultats du Chapitre II qui

définissent deux grands groupes populationnels à partir des critères morphologiques, de compatibilité reproductive ainsi que d'une substitution observée sur le gène codant pour le *Cytochrome b*. Le groupe formé par Bénin, Taiwan et Réunion est en effet soutenu ici à plus de 95%. Cependant, les relations phylogénétiques entre les populations d'Autriche, d'Afrique du Sud, de Martinique, et avec le premier groupe (Bénin, Taiwan et Réunion), n'ont pu être significativement résolues (voir discussion générale).

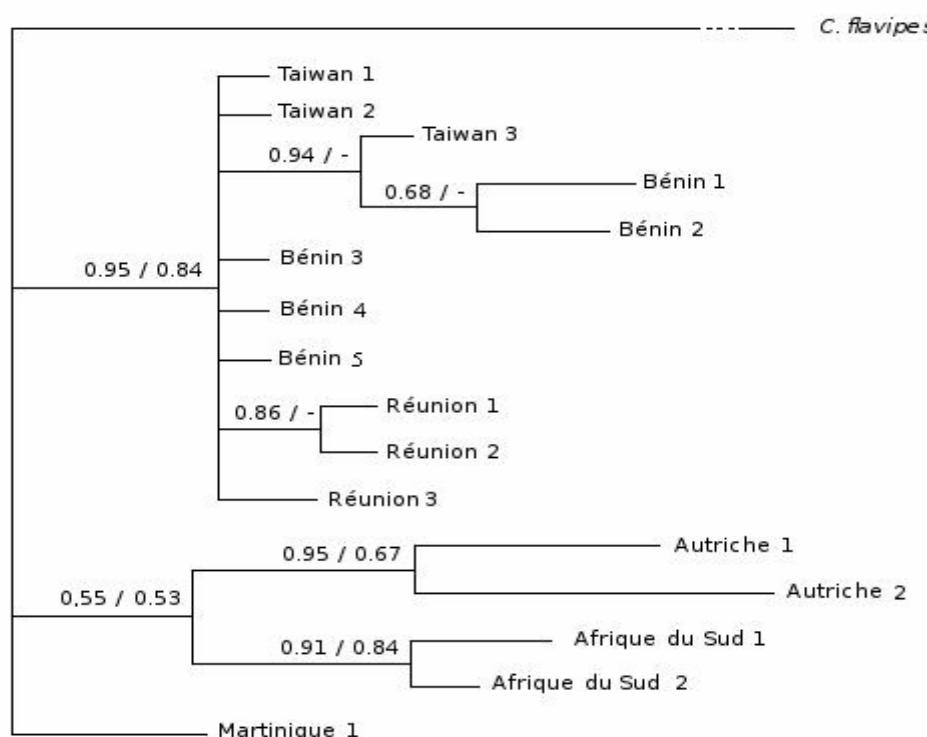


Figure 1. Arbre de consensus non enraciné obtenu en inférence Bayesienne et maximum de parcimonie à partir de séquences du gène nucléaire d'origine virale (polydnavirus) codant pour la protéine Tyrosine Phosphatase delta (PTPdelta) de populations de *C. plutellae* d'origines géographiques différentes. x/y sur les branches indique leur soutien, où x représente la probabilité à postériori en inférence Bayesienne, et y représente la valeur de Bootstrap obtenue avec la méthode de maximum de parcimonie, sur 1000 répétitions.

Chapitre III

Différenciation et adaptation locale des réponses fonctionnelles et du comportement d'interférence mutuelle chez *Cotesia plutellae*

Différenciation et adaptation locale des réponses fonctionnelles et du comportement d'interférence mutuelle chez *Cotesia plutellae*

1. Contexte de l'étude

La différentiation géographique des interactions entre espèces est démontrée dans de nombreux systèmes (Thompson 2005). Parce que les flux de gènes entre les populations qui composent une espèce peuvent être limités, les populations peuvent ne représenter qu'un échantillon de l'ensemble des traits génétiques et écologiques caractérisant l'espèce. Ainsi, les traits importants pour l'interaction avec une autre espèce peuvent diverger entre les populations (Thompson 1994, 1997, 2005, Althoff & Thompson 2001). Cette structuration géographique constitue le premier pas dans la formation d'une *mosaïque géographique*, qui modèle l'histoire évolutive particulière de l'interaction entre deux ou plusieurs partenaires (Althoff & Thompson 2001).

Parce que les parasitoïdes agents de lutte biologique et leurs hôtes entretiennent souvent des interactions très spécialisées, chacun des partenaires peut constituer une pression de sélection pour l'autre (Boulétreau 1986). Ainsi, la structuration géographique fait que leur coévolution peut prendre des directions différentes en fonction des localités. L'étude des mosaïques géographiques qui ont pu se mettre en place a ici un intérêt appliqué. La gestion d'introductions de parasitoïdes en lutte biologique doit considérer l'interaction entre les deux espèces (hôte et parasitoïde) à une échelle géographique large. Les populations des deux partenaires ont pu se différencier, en particulier, pour les traits impliqués dans leur interaction et s'adapter localement. L'étude des processus coévolutifs et des adaptations locales dans le domaine de la lutte biologique est encore peu développée. Dans les systèmes parasitoïde-hôte, la majorité des études sur les variations géographiques des interactions se sont focalisés sur les aspects immunitaires (Kraaijeveld & van Alphen 1994 et 1995; Burdon & Thompson 1995, Dupas et al. 2003). Or, une composante essentielle de l'interaction est déterminée par le comportement du parasitoïde (Althoff & Thompson 2001). Il comporte plusieurs étapes: recherche de l'habitat de l'hôte, recherche de l'hôte dans son habitat, et sélection de l'hôte, qui sont toutes nécessaires au succès parasitaire (Godfray 1994).

Parce que le succès parasitaire a des effets directs sur la reproduction du parasitoïde et sur la mortalité de l'hôte, l'étude du comportement des parasitoïdes présente la particularité d'être en relation étroite avec les dynamiques de la population de l'hôte et de la population du parasitoïde. Les systèmes hôte-parasitoïde ont constitué historiquement des modèles de dynamique de populations centrés sur le comportement individuel, ce qui a fait d'eux des modèles de choix en écologie (Nicholson & Bailey 1935). L'étude de la réponse fonctionnelle, i.e. de la variation de l'activité parasitaire en fonction de la densité de l'hôte, permet d'établir le lien entre le comportement du parasitoïde et la dynamique de la population de l'hôte. La réponse à l'interférence mutuelle, i.e. la variation de l'activité parasitaire en fonction de la densité du parasitoïde, a aussi été reconnue pour son effet sur la dynamique de la population hôte (Hassell & Huffaker 1969, Hassell 1978, van Alphen & Vet 1986, Bernstein 2000).

Dans ce chapitre, j'ai considéré que la dynamique de la population hôte pouvait constituer elle-même une pression de sélection variable entre localités et générer une différentiation adaptative. Une dynamique hôte particulière, étant le résultat de l'interaction de facteurs biotiques et abiotiques, parfois d'ordre agronomique, pourrait constituer un *marqueur* des écosystèmes. Cette pression de sélection agirait sur des caractères du parasitoïde liés aux types de réponse fonctionnelle et à la sensibilité à l'interférence mutuelle. La question abordée est de savoir si la variation entre populations de la réponse fonctionnelle et de la réponse à l'interférence peut être adaptative, et si cette adaptation se fait en fonction de la dynamique locale hôte et parasitoïde (interdépendantes entre elles).

2. Matériels et Méthodes utilisés

Le chapitre précédent a montré que l'espèce *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoïde du principal ravageur de la teigne du chou *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), est composée d'au moins deux groupes populationnels partiellement isolés reproductivement et appartenant probablement à des lignées évolutives distinctes. Une population de chacun des groupes a été caractérisée pour sa réponse fonctionnelle et sa réponse à l'interférence mutuelle. Les insectes ont été collectés en Martinique et au Bénin et élevés au laboratoire en cellules climatisées à 25° C, et sous une photopériode de 16h:8h L:D. Une population de l'hôte originaire du sud de la France (Languedoc) a été utilisée pour les expériences.

Deux types d'expériences ont été réalisés pour caractériser l'activité parasitaire des deux populations. La première considérait les variations d'activité parasitaire en fonction de la

densité hôte, la seconde, considérait les variations d'activité parasitaire en fonction de la densité de parasitoïdes. Plusieurs modèles théoriques de réponse fonctionnelle et de réponse à l'interférence ont été testés pour leur ajustement aux données expérimentales, par maximum de vraisemblance. Cette analyse a permis d'estimer des paramètres biologiques : la capacité de recherche, le temps de manipulation de l'hôte et le paramètre d'interférence, pour chacune des deux populations. Deux types de réponse ont été identifiés : Les parasitoïdes du Bénin ont montré une réponse fonctionnelle de type I et une sensibilité importante à l'interférence mutuelle. Les parasitoïdes de la Martinique, ont montré une réponse de type II et une sensibilité moins importante à l'interférence mutuelle. Deux types de parasitoïdes ont ainsi été définis, le type Martinique et le type Bénin.

Un travail de modélisation par simulation a été réalisé pour analyser l'évolution des fréquences des deux types de parasitoïde, en compétition, en fonction de paramètres de dynamique hôte (la capacité de charge et le taux intrinsèque de croissance). Les paramètres biologiques estimés lors des ajustements des modèles de réponse fonctionnelle et de réponse à l'interférence mutuelle ont été utilisés pour les simulations. Certaines hypothèses de travail ont été faites quant à l'interaction entre les deux types de parasitoïdes et la distribution des attaques. Concernant l'interaction entre les deux types de parasitoïdes, une matrice d'interaction a été construite. Elle supposait que le temps gaspillé à cause de l'interférence différait en fonction des rencontres entre individus de chaque type. Ainsi, le type Bénin perdait du temps à interférer avec les autres mais "gagnait" la placette d'hôtes. Le type Martinique perdait moins de temps à cause de l'interaction mais était contraint à quitter la placette en cas de rencontre avec un individu de type Bénin, et devait investir du temps pour en retrouver une nouvelle. Une analyse de sensibilité a été effectuée. La robustesse de la réponse aux paramètres de la dynamique hôte a été évaluée en faisant varier les inconnues du modèle d'interaction qui n'avaient pas été mesurées au laboratoire (i.e. les paramètres des distributions des attaques et le temps de retrouver une nouvelle placette). Concernant la distribution des attaques, deux types de modèles ont été utilisés. Le premier supposait une distribution agrégée binomiale négative avec indépendance des attaques par les deux types de parasitoïdes, le second une distribution de Poisson avec une fraction de la population hôte en situation de refuge, inaccessible aux deux types de parasitoïdes (i.e. il a été supposé que les mêmes individus étaient en situation de refuge vis à vis deux types de parasitoïdes). Les attaques des deux types de parasitoïdes étaient supposées indépendantes pour la fraction d'hôtes exposée.

La modélisation a eu pour second objectif de comparer le niveau de contrôle de l'hôte attendu pour chacune des populations en fonction de paramètres de la dynamique hôte, avec la même analyse de sensibilité que celle décrite précédemment. Le travail a permis de proposer des hypothèses sur les causes de la différentiation entre les populations de parasitoïde en relation avec la dynamique locale de leurs hôtes.

3. Résultats principaux

Les femelles du Bénin ont montré une réponse fonctionnelle de type I et une sensibilité importante à l'interférence mutuelle. Les femelles de la Martinique, ont montré une réponse de type II et une sensibilité moins importante à l'interférence mutuelle. Deux types de parasitoïdes ont été définis, le type Martinique et le type Bénin.

Les simulations ont montré qu'en situation de compétition les deux types, Martinique et Bénin, peuvent coexister de façon stable lorsque la distribution des attaques est agrégée et indépendante (i.e. modèle de distribution binomiale négative). Lorsque la distribution des attaques est poissonienne et qu'il y a une fraction de la population hôte en situation de refuge vis-à-vis des deux parasitoïdes, la coexistence des deux types de parasitoïde n'est pas possible. Pour les deux modèles, le type Martinique est favorisé lorsque les valeurs de taux intrinsèque de croissance et de capacité de charge de la population hôte sont faibles. Le type du Bénin est favorisé lorsque les valeurs de taux de croissance et de capacité de charge sont plus fortes.

Concernant le taux de contrôle, lorsque les deux types de parasitoïdes sont étudiés séparément, les simulations ont montré un meilleur contrôle de la population hôte pour le type Martinique que pour le type Bénin, sauf pour quelques exceptions. Lorsque les deux types sont mis en compétition, le taux de contrôle est affecté de manière différente en fonction des modèles de distribution des attaques. Lorsque la distribution des attaques est agrégée et indépendante (i.e. modèle de distribution binomiale négative), le taux de contrôle exercé par la coexistence des deux types pouvait être amélioré, par rapport au meilleur taux de contrôle obtenu par chacun des types agissant seul. Lorsque la distribution des attaques est poissonienne et qu'il y a une fraction de la population hôte en situation de refuge vis-à-vis des deux parasitoïdes, nous avons vu plus haut que le type Martinique contrôle toujours mieux la population de l'hôte. Cependant, lorsque les deux types sont en compétition et que les paramètres de capacité de charge et de taux intrinsèque de croissance de l'hôte sont élevés, le type Bénin emporte la compétition et déplace le type Martinique. Dans ce cas le taux de contrôle est moindre, par rapport au taux de contrôle obtenu par le type Martinique agissant

seul.

4. Discussion

Les résultats expérimentaux montrent que les femelles du Bénin répondent efficacement aux incrément de la densité d'hôtes et présentent une sensibilité importante à l'interférence mutuelle. Les femelles de la Martinique répondent moins efficacement aux incrément de la densité de parasitoïdes et présentent une sensibilité à l'interférence mutuelle moins importante. Les résultats des travaux de modélisation nous conduisent à proposer l'hypothèse que cette différentiation est une réponse adaptative à la dynamique hôte. Lorsque les valeurs de paramètres de taux intrinsèque de croissance et de capacité de charge de la population hôte sont importantes, le parasitoïde type Bénin est favorisé. Lorsque ces valeurs sont faibles, le type Martinique est favorisé. Les suivis effectués sur le terrain au Bénin et en Martinique sont en accord avec cette hypothèse. Les densités de l'hôte *P. xylostella* sont plus importantes au Bénin qu'en Martinique (Goudegnon et al. 2004 pour Bénin et données non publiées pour Martinique). Il est donc probable que les taux de croissance intrinsèques et capacités de charge soient plus importants au Bénin qu'en Martinique. Des études sur la fertilité des populations de *P. xylostella* originaires de ces localités, sous conditions contrôlées, sont en accord avec cette hypothèse (Pichon 2004).

Les simulations suggèrent que les deux types peuvent coexister en sympatrie. Il s'agit des cas où la distribution des attaques est agrégée, et où les refuges générés par cette agrégation sont indépendants pour les deux parasitoïdes. La coexistence pourrait être due au fait que la proportion d'hôte en situation de refuge vis-à-vis du parasitoïde le plus compétitif reste disponible pour celui qui est moins compétitif, et de ce fait, le parasitoïde le moins compétitif est protégé de l'extinction. Dans le cas où la distribution des attaques est poissonienne avec un refuge commun vis-à-vis des deux types de parasitoïde, les deux types de parasitoïdes ne peuvent pas coexister. Cela pourrait être du au fait que lorsque la densité du parasitoïde le plus compétitif augmente, il n'existe plus d'hôte disponible pour le parasitoïde moins compétitif.

Sauf pour quelques cas particuliers, les simulations ont montré des taux de contrôle de l'hôte plus importants pour les parasitoïdes du type de Martinique, et ce quel que soit le modèle de distribution et quelques soient les paramètres de dynamique hôte. Cependant en situation de compétition, c'est parfois le type du Bénin qui emporte la compétition, notamment lorsque les paramètres de dynamique hôte sont élevés. Il serait possible que les

parasitoïdes les plus compétitifs ne soient pas nécessairement ceux qui contrôlent le mieux les populations de l'hôte. En revanche, lorsque les deux types peuvent coexister en sympatrie, le niveau de contrôle des deux types ensemble est parfois meilleur que le meilleur taux de contrôle de chacun des deux pris séparément. En fonction du modèle de distribution des attaques, la meilleure stratégie pour contrôler les populations de l'hôte pourrait être soit l'introduction du type Martinique seul, soit les deux types. Cependant sur la base de nos études, il est encore difficile de tirer des recommandations pour les introductions de ces parasitoïdes. Des travaux sur le terrain s'avèrent nécessaires pour valider nos hypothèses de travail, principalement celles concernant la distribution des attaques des parasitoïdes et l'effet de l'interférence sur le comportement des parasitoïdes.

Le principal résultat de ce chapitre est que les deux populations du parasitoïde se différencient pour des traits comportementaux impliqués dans leur interaction avec l'hôte, qui sont des composantes essentielles de leur valeur sélective. Ces traits correspondent à des paramètres de modèles qui relient le comportement individuel et la dynamique des interactions hôte-parasitoïde et que sont habituellement considérés comme fixes. Notre étude de modélisation suggère qu'ils peuvent répondre à des pressions de sélection exercées par la dynamique hôte, donc évoluer. En retour, l'évolution de ces traits peut avoir des conséquences sur la dynamique hôte. Les différences géographiques d'ordre génétique ou environnemental affectant la dynamique hôte peuvent générer des processus de coévolution en mosaïque géographique. Comprendre ces processus permettrait d'expliquer, au moins partiellement, les variations dans l'efficacité du contrôle biologique. L'article en cours de rédaction est présenté ci-après.

Article 3. Local adaptation of functional responses and mutual interference behaviour in *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae)

Claudia Rincon, Amandine Bordat, Dominique Bordat & Stéphane Dupas

Article en cours de rédaction

Abstract

Authors have repeatedly shown that traits important to species interactions may differ geographically among populations or groups of populations. Laboratory tests were conducted to evaluate the response in parasitizing activity of two populations of *Cotesia plutellae* native to Martinique and Benin, to variations in host and parasitoid densities. These reproductively isolated populations were compared for their parasitism rates at five host larvae densities (10, 20, 40, 80 and 120) and four parasitoids densities (1, 2, 4 and 8). The response to host and parasitoid densities differed between populations. Benin population exhibited a type I functional response and was susceptible to interference whereas Martinique population exhibited a type II functional response and was less susceptible to interference. On the basis of these responses, two parasitoid types were characterized: Martinique and Benin types. The question whether the differentiation of parasitoid behaviour is the result of local adaptations to host population dynamics was addressed by computer simulations. The evolution of the frequencies of parasitoid types was simulated in ranges of host-parasitoid dynamical parameters. We assumed an interaction matrix for the time wasted at interacting with another parasitoid or at finding a new host patch. The results suggest that Benin parasitoid type increases in frequency in response to increments in parameters of host abundance (i.e. carrying capacity and host rate of increase) which is consistent with field observations on the *C. plutellae* populations. Coexistence between the two types of parasitoid occurs only when host in refuge condition for one parasitoid type are available for the other and impossible when hosts in refuge condition are common for the two parasitoid types. Interestingly, in the first case, coexistence is beneficial for the ratio of host control whereas, in the second case, depending on host population dynamic parameters, the issue of competition is either beneficial or detrimental for the ratio of host control, when compared to the performance of the best of each type. Biological control operations could improve their efficiency by considering evolutionary dynamics and patterns of local adaptations in parasitoid host interactions.

1. Introduction

Differences in habitats geographically isolated can lead to genetic differentiation and/or to local adaptation of populations. Both differentiation and local adaptations could be shaped by abiotic factors exhibiting geographic patterns as climatic conditions or by particular coevolutionary dynamics between pairs or groups of interacting species. Depending on the rate of gene flow among populations within interacting species, traits important to an interaction may become geographically structured, and populations may only contain a subset of the traits exhibited within the entire species (Thompson, 1994, 1997, 2005; Althoff & Thompson, 2001). The formation of geographic structure for species abundance and genotypic variation is the first step in the creation of a geographic mosaic, which may drive the particular evolutionary dynamics of interactions (Althoff & Thompson, 2001).

Geographic variations have been described in many interactions between pairs or groups of species for traits involved in the interactions (Carroll & Boyd, 1992; Benkman, 1993; Carroll et al., 1997; Benkman, 1999). Most of these studies concern resistance-virulence patterns of immune interactions (Kraaijeveld & van Alphen, 1994 and 1995; Burdon & Thompson, 1995; Joshi & Thompson, 1996; Dupas et al., 2003).

Despite the importance of foraging behaviour for determining the reproductive success of parasitic wasps, the studies on behavioural adaptation of parasitoid populations are scarce (Althoff & Thompson, 2001). Foraging behaviour consists of finding host's habitat, finding the hosts in their habitat and to parasitize them. Since, once parasitized a host often leads to a progeny development, the foraging behaviour determines in a great part the relative fitness of individuals (Godfray, 1994). This direct link between behaviour and fitness makes variations in foraging success probably subject to strong selective pressures (van Alphen et al., 2003).

Because environments may differ in the behaviour that leads to successful parasitism, wasps in different habitats may evolve to behave differently in response to natural selection (van Nouhuys & Via, 1999). For immune counteracting mechanisms, geographic differentiation between parasitoid populations has been shown to be mainly driven by differences in the host species diversity (Dupas et al., 2003). For behaviour, differentiation between parasitoid populations may be driven by variations in host genetic traits (Kraaijeveld et al., 1995; Dubuffet et al. 2006) and/or by differences in factors determining the demography of host species.

In the present work, we consider that host population dynamics can itself be considered as a selective pressure inducing the differentiation of parasitoid behaviour. Host population dynamics might characterise localities and mirror biotic and abiotic factors interacting and driving for a particular demographic dynamic. In host-parasitoid interactions, the abundance of the host species is directly affected by the abundance of the parasitoid which in turn feeds back on the abundance of the host. Functional response is the study of the variations in the parasitoid attack rates in response to host density (Solomon, 1949). Because parasitoid behaviour is in relation with parasitoid reproduction and host mortality, functional responses allow linking both the host and the parasitoid population dynamics by incorporating parasitoid behavioural traits. Further, mutual interference, that is the reduction in parasitoid individual attack rates in response to parasitoid density (Hassell & Huffaker 1969, Hassell 1978, van Alphen & Vet 1986), have considered to have major consequences for population dynamics, mainly for its stabilisation (Beddington 1975, Bernstein 2000).

We explored experimentally and theoretically the behavioural adaptation of two populations of *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) to differences in dynamics of host populations, along with the parameters in host-parasitoid dynamics that can differ between localities and that may be responsible for variations in host population dynamics. Our experiments were designed to answer the following questions: (i) Did parasitoids behave differently when tested in high host-parasitoid densities habitats than when exposed to low host-parasitoid densities habitat? (ii) Did their behaviour depend on where they were collected from (high host-parasitoid densities habitat or low host-parasitoid densities habitat); (iii) Are behaviour of parasitoid populations locally adapted to a particular host-parasitoid dynamic?

In this respect, we observed the behaviour and measured the parasitism rate of individual and groups of parasitoid wasps from two populations. The first populations, native to Benin, was originated from cabbage fields in an agricultural area dominated by cabbage cultures, where host and parasitoid densities are relatively high, during all the year (Goudegnon et al., 2004). The other population, native to Martinique, was originated from a habitat where cabbage is grown only during a short period in the year and where host and parasitoid densities are generally low (Bordat, unpublished). Behavioural differentiation between populations was measured in an experimental setting. The question whether behavioural differences were locally adapted was addressed theoretically by simulation. The evolution of

the frequencies of the two variants was simulated in a range of host-parasitoid dynamical parameters and its response to host density was analysed qualitatively and quantitatively.

The solitary larval parasitoid of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), *C. plutellae*, exhibits almost worldwide distribution, suggesting it has a large adaptation capacity. This study aimed to determine whether the parasitoid is adapted to a local environment characterised by an ongoing host population dynamics. Parasitoid control of their host populations varies geographically in its efficacy (e.g. Goudegnon et al., 2004, Guilloux et al., 2003, Kfir, 1997 and Waladde et al., 1999). Differences in the local adaptations of parasitoid to an ongoing population dynamic could explain these differences. Differences in host population dynamics and parasitoid behaviour may be a key factor explaining differences in control efficacy of *C. plutellae* populations.

2. Materials and Methods

2.1. Wasps and hosts

The presence of *C. plutellae* in Benin and Martinique is supposed to be natural (no introduction is reported in literature). The two populations are reproductively incompatible and differentiated by molecular and morphometrical markers (Rincon et al. 2006).

Parasitized and unparasitized larvae of the host *P. xylostella* were collected in Benin (Cotonou area) and Martinique Island (Province of Lamentin), from field-grown cabbage plants (*Brassica oleracea* subsp. *capitata* L.). They were reared under a 16:8 h light: dark regime at 25°C, until the emergence of parasitoid larvae. Colonies of *C. plutellae* were obtained and reared using the protocol detailed in Rincon et al. (2006). A *P. xylostella* population from the southern France (Languedoc) was used as experimental host.

2.2. Experiment 1: host density

We investigated the parasitic behaviour of *C. plutellae* Benin and Martinique strains on host patches of different densities. Naive 24- 48 h old, mated females (provided with males the day before the experiment) were released individually on a patch of 10, 20, 40, 80 or 120 unparasitized L3 *P. xylostella*. The host larvae were disposed in the middle of a standard cabbage leave (150 cm²), in a plastic box of 30 × 27 × 10 cm³. Females were allowed to parasitize for 24 h and then were removed. The larvae were fed on fresh cabbage leaves until their pupation or the emergence of parasitoid progeny. Ten control experimental units were kept unparasitized to estimate the natural mortality of the host larvae (including manipulation

effects). We measured the number of *P. xylostella* pupae produced and the number of emerging parasitoids. Seven to ten replicates were carried out for each parasitoid strain and each host density.

The following variables were calculated to quantify the parasitic activity of wasps: (i) Functional response (*FR*), defined the fraction of host escaping parasitism, estimated by 1 less the difference between the number of pupae of *P. xylostella* produced from unparasitized and parasitized experimental units. Assuming that no pupae host can develop from a parasitized larva, this variable corresponds to the number of host no encountered by each female (Vavre et al. 2002) and (ii) Numerical response (*NR*), the number of offspring produced (Vavre et al. 2002).

2.3. Experiment 2: parasitoid density

In the second experiment, we investigated the parasitic behaviour of *C. plutellae* Benin and Martinique strains in patches containing different densities of parasitoids. Naive 48 h old mated females (provided with males the day before the experiments) were released in groups of 2, 4 and 8 on a patch of 120 unparasitized L3 *P. xylostella*. The host larvae were disposed similarly in the middle of a standard cabbage leave. Females were allowed to parasitize for 24 h and then were removed. We measured the number of *P. xylostella* pupae produced (host surviving to parasitism) and the number of emerging parasitoids. Seven to ten replicates were carried out with each parasitoid strain and each parasitoid density. *FR* and *NR* were estimated the same way as in the experiment 1.

2.4. Statistical procedures

In a first step, homogeneity hypotheses were tested for the dependent variables: the fraction of host escaping parasitism (*FR*), the number of adults produced (*NR*), over host and parasitoid densities for each population by ANOVA tests. *FR* data were analysed after arcsinus transformation. When test were significant, means were separated with Student-Newman-Keuls statistics at $P < 5\%$. Homogeneity hypothesis between populations for each host and parasitoid density were tested by *t-student* tests.

In a second step, we compared models from among models reported in the literature (listed in Table 1) by their fit on the experimental data. We tested models of functional response without interference on data obtained with single females and models with interference on the whole matrix of data. The binomial probabilities of the *FR* experimental

data (fraction of host dying because of parasitism) were calculated by assuming arbitrary initial values of the parameters for each host and parasitoid densities. The likelihood function was maximized by the Newton-Raphston method. The optimized parameter values were kept. Because the Type I model is a generalisation of Type II model which is also a generalisation of Type III model, the best model explaining the behavioural response of *C. plutellae* strains to host density (Type I, Type II or Type III) was selected by Ratio Likelihood Tests. For selecting the model explaining the populations' response to interference, we used their Akaike Information Criterion (AIC) (Akaike, 1973). All statistical analyses were realized using the "R" statistical program (the R development core team, 2003).

Table 2. Functional response models from the literature tested for their fit on *C. plutellae* populations experimental data for comparing the parasitic behaviour of two populations.

Fraction of host surviving to parasitoid	Denomination	Author(s)
$F(t) = \exp(aP(t))$	Type I: Linear response	Nicholson and Bailey (1935)
$F(t) = \exp(aP(t)/(1+aThH(t)))$	Type II: Parasitoid with random parasite equation	Holling 1959, Rogers 1972
$F(t) = \exp(-bH(t)P(t)/(1+cH(t)+bThH(t)^2))$	Type III: Sigmoidal response	Hassel et al. 1976
$F(t) = \exp(aP(t)/(1+aThH(t)+c(P(t)-1)))$	Beddington-DeAngelis (BD): Type II + mutual interference	Beddington(1975) DeAngelis et al. (1975)
$F(t) = \exp(aP(t)/(1+ aThH(t)+ c(P(t)-1)+Th cH(t) (P(t)-1)))$	Martin Crowley (MC): BD + discrimination of parasitoid activities	Crowley and Martin (1989)

2.5. Computer simulations of the evolution of the interference behaviour

2.5.1. The general framework

The general expression of the discrete generation model we used was:

$$H(t+1) = H(t) f(Nt, Pt) \lambda g(Nt) \quad (\text{eqn 1})$$

$$P(t+1) = H(t) [1-f(Nt, Pt)] \lambda g(Nt) \quad (\text{eqn 2})$$

Where $f(t)$ is the functional response, or the fraction of host escaping parasitism, $f(t) = p(X=0)$, with X , the number of parasitoid larvae per host larvae. $g(Nt)$ is the fraction of host escaping density-dependent mortality (due to system's carrying capacity).

For $f(t)$, we assumed two different models: functional response with negative binomial attacks distribution $f_{NB}(t)$ and functional response with Poisson attack distribution $f_{PR}(t)$. The first $f_{NB}(t)$ assumes a negative binomial distribution of the number of attacks (i.e. eggs) per host larvae:

$$f_{NB}(t) = p(X_{NB}=0), \text{ where } X_{NB} \sim \text{NegBin}(Natt, k).$$

with k , clumping parameter (Hassel, 1980) ($k \rightarrow 0$ when attacks are aggregated), and $Natt$, the mean number of attacks per host larvae. The second $f_{PR}(t)$, assumes a Poisson attack distribution and a host fraction escaping parasitism because of refuge condition (i.e. never attained by parasitoids):

$$f_{PR}(t) = p(X_{PR}=0) + \alpha, \text{ where } X_{PR} \sim \text{Poisson}(Natt)$$

with α , the proportion of hosts in refuge condition escaping parasitoid and $Natt$, the mean number of attacks (i.e. eggs) per host larvae. We denoted it as Poisson-Refuge model.

We used the Beddington-De Angelis (Beddington 1975, De Angelis et al. 1975) population dynamic model (type II + interference), since it was the simplest best fitted to our experimental data in the previous section. $Natt$ was calculated as follows:

$$Natt = aP / [(1+aThN)(1+c(P))]$$

Where a , Th and c are the parasitoid searching efficiency, host handling time and interference coefficient, respectively.

$g(Nt)$ was calculated as suggested by Hassel (1975) and Hochberg & Holt (1995), assuming stabilizing compensatory density dependence:

$$g(N_t) = [1 + N_t (\lambda - 1)/C]^{-1}$$

2.5.2. Competition model between Benin and Martinique parasitoid types

Our experimental results showed (see results) that Benin type searching capacity was more affected by direct mutual interference than Martinique type. Benin type exhibited a type I functional response and Martinique type exhibited a functional response of type II. The question whether these differences in their responses were locally adapted to an ongoing host population dynamic was addressed theoretically by computer simulations. We denoted Martinique parasitoid type by the superscript “M” and Benin parasitoid type by the superscript “B”.

The functional response was defined for each of the two parasitoid types: f_M , for the proportion of host escaping Martinique parasitoid type, and f_B , for the proportion of host escaping Benin parasitoid type. Attacks were assumed independent. The expression of the discrete generation model derived from equations 1 and 2 was:

$$H(t+1) = H(t) f_M(N_t, P_{M,t+1}, P_{B,t+1}) f_B(N_t, P_{M,t+1}, P_{B,t+1}) \lambda g(N_t)$$

$$P_{M,t+1} = H(t) [1 - f_M(N_t, P_{M,t+1}, P_{B,t+1})] \lambda g(N_t)$$

$$P_{B,t+1} = H(t) [1 - f_B(N_t, P_{M,t+1}, P_{B,t+1})] \lambda g(N_t)$$

The average number of attacks per host larvae under interference conditions were calculated for each parasitoid type as follows (derived from equation 5):

$$Natt_M = a_M P_{tM}[1] / ((1 + a_M T h_M N + c[1,1](P_{tM}) + c[1,2](P_{tB})))$$

$$Natt_B = a_B P_{tB}[1] / ((1 + a_B T h_B N + c[2,1](P_{tM}) + c[2,2](P_{tB})))$$

Where $c[i,j]$ is the interference coefficient of the parasitoid i when interacting with parasitoid j . The game matrix $c[i,j]$ is given in Table 2.

Table 2. Game matrix of Beddington-De Angelis interference parameter (c) for encounters between two parasitoid types differing by their sensibility to mutual interference.

<i>c</i> values of parasitoid <i>i</i>		<i>Parasitoid j</i>	
		Martinique type	Benin type
Martinique type	$Ti_M b$	$(Ti_M + Tr) b$	
Benin type	$Ti_B b$	$Ti_B b$	

$c[i,j]$ is the interference parameter of the parasitoid i in the presence of the parasitoid j . Interference parameter $c[i,j]$ is expressed as the product of parasitoid encounter rate (b) and time wasted due to parasitoid encounters Ti and Tr . Ti is the time wasted because of interactions between parasitoids and Tr is the time wasted because of patch recovery. Interference parameters were obtained by maximum likelihood estimation of the interference experiments ($c_1 = Ti_M b = 0.25$ and $c_2 = Ti_B b = 0.46$, for Martinique and Benin population respectively).

Our experimental results showed that Benin parasitoid type searching capacity was more affected by interference than Martinique parasitoid type (see results). Nevertheless we did not observe directly the effect of mutual interference on parasitoid behaviour. Several authors have shown that direct mutual interference has strong consequences on patch residence time (Wajnberg et al. 2004, van Alphen et al. 2003). In the present work, our hypothesis was that when other parasitoids are detected, Benin parasitoid type stays in the patch and wastes time interfering. Martinique parasitoid type is supposed to leave the patch in the presence of Benin type, and to stay in the patch interfering in presence of parasitoids of the same type. Martinique parasitoid type, leaving the patch because of the presence of Benin parasitoid type, has to recover another patch. This leads to a waste in time budget and, therefore, to a

reduction of time available for host searching. Wasted time varies in function of encounters between the different parasitoid types (Table 2).

For the first model, *i.e.* negative binomial distribution of attacks (with independent distributions), we considered the effect of patch leaving on the distribution of attacks parameter (k). Because when Martinique parasitoid type encounters Benin parasitoid type, it is supposed to leave the patch and reduce its aggregation. Thus, we assumed the Benin parasitoid type aggregation parameter (k_B) to be constant and the Martinique parasitoid type aggregation parameter (k_M) to increase (k increases when attacks are less aggregated) proportionally to the relative abundance of Benin parasitoid type, as follows :

$$k_M = k_B (1 + DesAgg (P_B / (P_M + P_B)))$$

Where $DesAgg$ is a desaggregation parameter. We denote this model as Negative-Binomial model.

For the second model, *i.e.* Poisson distribution of attacks, we assumed that host in a situation of refuge escape both parasitoid types (Poisson-Refuge model). The same fraction of host population is considered in situation of refuge from parasitism by the two competing parasitoid types (α).

In case of superparasitism, we assumed the probability of emergence of each parasitoid to be equal to its relative proportion in the host larvae.

The evolution of the frequencies of two types, Martinique and Benin, was simulated in ranges of all possible combinations of parameters:

The host population dynamics parameters were carrying capacity, C , which took values of 8, 16, 32, 64, 128 and 256 hosts per patch. Host intrinsic rate of increase, λ , took values of 4, 8, 12, 16, 20 and 24 hosts per host in the generation t .

The parasitoid biological parameters were searching efficiency a , handling time, Th , and interference parameters: b , the encounter rate between parasitoids and Tc , the wasted time

because of interactions between parasitoids. We used values estimated for each parasitoid type from experimental data with the Beddington-De Angelis model (Table 3).

Other parameters that have not been measured in the laboratory were patch recovery time Tr , fraction of host in refuge condition, α , and aggregation parameters, k and $DesAgg$. Tr took values of 0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 and 0.05; k took values of 0.4, 0.6 and 0.8; $DesAgg$ took values of 0.25, 0.50, 0.75, and 1.00 (see below).

2.6. Analyses of the simulation outputs

2.6.1. Issues of competition in response to host dynamic parameters.

The issue of competition between the two strains was quantified by the proportion of each parasitoid type. For the proportion of Benin parasitoid type, we calculated $P_B^*/(P_M^* + P_B^*)$, where P_M^* and P_B^* represent the densities of parasitoid at equilibrium (when stable) or the average density during a cycle (when stably cycling) of Martinique and Benin parasitoid types, respectively. The frequency allowed us to analyze qualitatively the evolution of behaviour in response to host population dynamics parameters. Other parameters than those of the host dynamics are expected to affect ratio of host control and competition issue between the two types of parasitoids. These *confounding* parameters are those affecting attack distribution models (k and $DesAgg$ for the Negative-Binomial model or α for the Poisson-Refuge model) and patch recovery time (Tr). Since they had not been estimated in the laboratory experiments, a susceptibility analysis was performed. The changes in the relationship between competition issue or ratio of host control (see below), and host dynamics was examined for different values of these confounding parameters.

2.6.2. Consequences for the control of the host.

The ability of the parasitoids to control host population was quantified by the ratio of host control N^*/C where N^* is the host population density at equilibrium or the average during a cycle, and C the carrying capacity. This measure is considered an estimation of the ability of the parasitoid population to control the host population dynamics (Hochberg & Holt 1995).

The ratios of host control were compared between Maritinque and Benin types in the absence of the other one. Each of them was then compared to the ratio control obtained with both types in competition. The effect of competition was qualified in different categories : antagonist when worst than ratio of host control of each type alone, inverse-optimal when equal to the worst ratio of host control each type alone, intermediate when intermediate,

optimal when equal to the best ratio of host control of each type alone, and synergic when better than each type alone.

When the two types in competition performed worse than the worse type alone we concluded that competition was highly detrimental for the ratio of host control. When the two types in competition performed worse than the best type alone, we concluded that the competition was detrimental for the ratio of host control. When the two types in competition performed better than the best type alone we concluded that competition was beneficial for the ratio of host control. When the performance was the same, we concluded that competition was neutral. The detrimental, neutral or beneficial nature of competition was studied in the range of host dynamic parameter values for the two models.

3. Results

3.1 Response to host density

A positive relation between the richness of the patch and the parasitic activity of females of both populations was observed. The Fig. 1a and 1b show the functional and numerical responses of Benin and Martinique populations to host density. The number of hosts parasitized by the two species were statistically similar at densities of 10, 20, 40 and 80 host, but at density 120 Martinique population parasitized fewer hosts than Benin females ($F_{test_{13,1}} = 36.64, p = 0.001$). Similar results were observed for the number of offspring produced, differences were significant only at density 120 ($F_{test_{13,1}} = 5.33, p < 0.05$).

3.2. Response to parasitoid density

Fig 2a and 2b show the number of parasitized host and the number of offspring produced at different parasitoid densities. Populations differed in the number of parasitized host at densities of one, two and four parasitoids, Martinique population parasitized less than Benin population. However, there were no significant differences between populations at density 8. The number of offspring produced was similar for both populations at densities 2, 4 and 8. The Martinique population produced less offspring than Benin at the density *one female*.

3.3. Determination of functional response models

Table 3 shows the results of the adjustment of models of behavioural response to host density. For Benin population, the number of eggs parasitized increased linearly with increasing host density. LRT revealed that the type I functional response fit better to the

experimental data than type II response (Holling 1959, Rogers 1972, random parasite equation) and type III response (Hassel et al. 1976, sigmoidal response). For Martinique population, type II fit better than others. The parasitic activity reached a plateau. Interference models (Beddington-DeAngelis and Martin Crowley) were similarly fit on experimental data. Because the Beddington-DeAngelis were the simplest model, we retained it. A lower interference parameter for Martinique population ($c = 0.25 \pm 0.04$) than for Benin population ($c = 0.46 \pm 0.03$) indicated that Martinique population was less sensible than Benin population to parasitoid density.

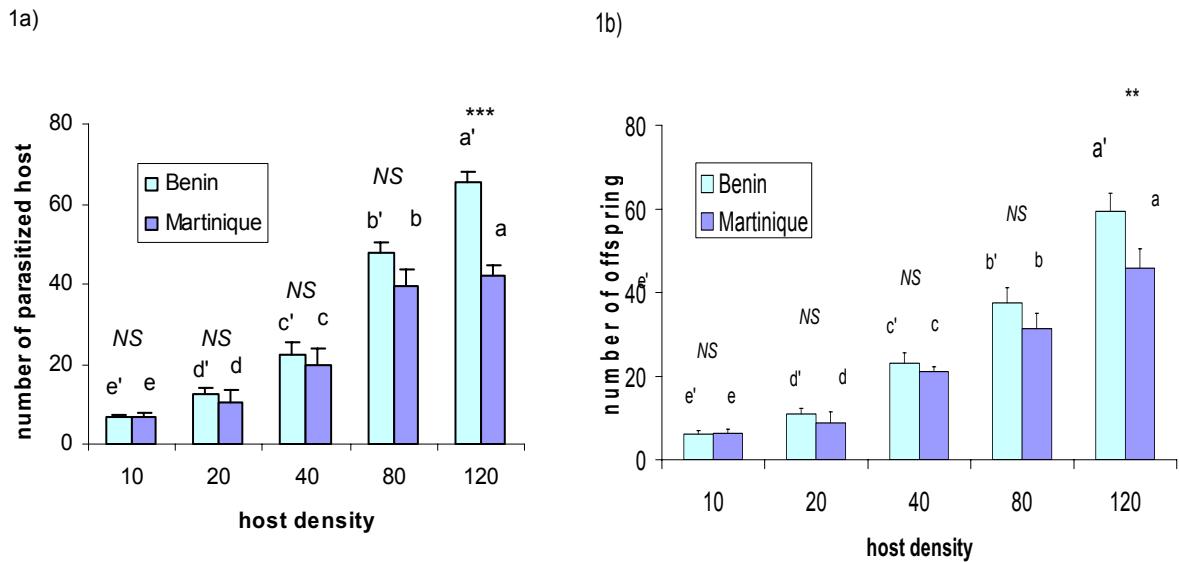


Figure 1. Effect of host density on the number of parasitized hosts (Figure 1a) and on the number of offspring (Figure 1b) produced by two *Cotesia plutellae* populations native to Benin and Martinique. Means are given \pm SE. Numbers of parasitized hosts with the same letter are not significantly different (F-test 5%).

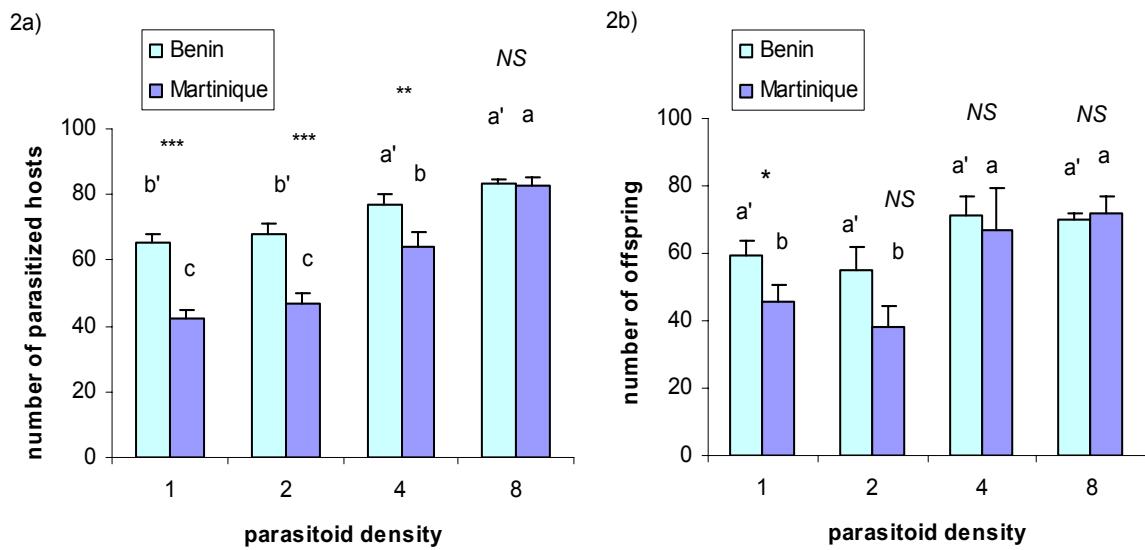


Figure 2. Effect of parasitoid density on the number of parasitized hosts (Figure 2a) and on the number of offspring (Figure 2b) produced by two *Cotesia plutellae* populations. Means are given \pm SE. Numbers of parasitized hosts with the same letter are not significantly different (F-test 5%).

Table 3. Fit of functional response models from the literature tested for their fit on experimental data of two *C. plutellae* populations originating from Martinique and Benin.

Population		Martinique				Benin			
Model	Parameters	Estimates	p-value	Deviance	LRT	Estimates	p-value	Deviance	LRT
Type I.	Searching efficiency	a = 0.66(0.62- 0.69)	2.201577e-62	391.64	Ptest Type I vs Type II 0.0004313972	a = 0.96(0.91-1.00)	4.56e-32	235.93	Ptest Type I vs Type II 0.0895662
					Ptest Type I vs Type III 0.003026152				Ptest Type I vs Type III 0.2368286
	Searching efficiency	a = 0.88 (0.76- 0.99)			Ptest II v sIII 1	a = 0.85 (0.76-0.94)	5.90e-32	233.05	Ptest II v sIII 1
Type II.	Handling Time	Th = 0.004 (0.003 0.007)	1.890283e-60	379.25		Th = -0.002 (0-0)			
Type III.	Searching efficiency	b= 1.85e+03				b= 9.72e+02			
	Searching efficiency	c = 1.93e+03	3.77e-61	380.04		c = 1.14e+03	2.16e-32	233.05	
	Handling Time	Th = 5.81e-03				Th = -1.53e-03			

Table 3. (continuation) Fit of functional response models from the literature tested for their fit on experimental data of two *C. plutellae* populations originating from Martinique and Benin.

Model	Population origin	Martinique				Benin				
		Parameters	Estimates	p-value	Deviance	AIC	Estimates	p-value	Deviance	AIC
Beddington DeAngelis	Searching efficiency	a = 0.997 (0.86-1.14)					a = 0.89 (0.79-0.98)			
	Handling Time	Th = 0.008 (0.006-0.010)	1.28 e-86	548.27	554.27		Th = 0 (0-0)	1.01e-54	399.87	405.87
	Interference	c = 0.25 (0.17-0.33)					c = 0.46 (0.41-0.52)			
Martin Crowley	Searching efficiency	a = 0.998 (0.86-1.14)					a = 0.88 (0.77-1.00)			
	Handling Time	Th = 0.008 (0.01- 0.01)	1.28e-86	548.27	554.27		Th = 0 (0-0)	1.01e-54	399.87	405.87
	Interference	c = 0.24 (0.20- 0.28)					c = 0.50 (0.43-0.56)			

3.3. Simulation results

Competition between Martinique parasitoid type and Benin parasitoid type was simulated. The model assumed Beddington-De Angelis interference, and two different models for distributions of attacks, first a Negative-Binomial distribution of attacks (with variations in aggregation for the Martinique parasitoid type) and second, a Poisson-Refuge model (distribution with common refuge for the two parasitoid types). Interference time was determined by a matrix of interaction (Table 2). In the first model, Martinique type left the patch and its distribution was less aggregated, proportionally to its encounter rate with Benin type parasitoid.

3.3.1. Issues of competition in response to host dynamic parameters

The results of simulations for the Negative-Binomial model are summarized in Table 4.

For the Negative-Binomial model, host-parasitoid population dynamics always reached a stable equilibrium. Coexistence of the two parasitoid types was possible and maintained in a wide range of parameter values. The frequency of Benin parasitoid type varied in response to host population dynamics parameters (rate of increase, and carrying capacity) within a specific interval of recovery time. When recovery time was below or equal the interference time of the Benin parasitoid ($Tr \leq Ti_2 = 0.02$) there was no change in the issue of competition in response to host dynamical parameters. When recovery time exceeded interference time of the Benin parasitoid ($Tr > Ti_2$), the proportion of Benin parasitoid type increased with host population dynamics parameters. When recovery time exceeded twice interference time ($Tr > 2Ti_2$), the Martinique parasitoid type always went to extinction, excepted for very low host rate of increase ($\lambda = 4$).

Table 4. Variation in the frequency of two *C. plutellae* parasitoid types differing by their response to variation in host and parasitoid densities. Negative-Binomial Model.

Population dynamic parameter	Increments in the parameter range	Variation of the frequency Benin type
Desaggregation parameter for Martinique type (<i>DesAgg</i>)	0.25, 0.50, 0.75, 1.00 →	↓
Aggregation parameter (<i>k</i>)	0.4, 0.6, 0.8 →	↓ in low <i>Tr</i> values (<0.02) ↑ in high <i>Tr</i> values(>0.02)
Patch recovey time (<i>Tr</i>)	0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 →	↑
Host rate of increase (λ)	4, 8, 12, 16, 20, 24 →	Unsusceptible in low <i>Tr</i> values(<0.02) ↑ in high <i>Tr</i> values (>0.02)
Host carrying capacity (<i>C</i>)	8, 16, 32, 64, 128, 256 →	Unsusceptible in low <i>Tr</i> values (<0.02) ↑ in <i>Tr</i> values (>0.02)

Evolution of the frequency of Benin type (type I functional response and sensible to mutual interference), in competition with Martinique type (type II functional response and less sensible to mutual interference), in response to host-parasitoid population dynamic parameters. Beddington-De Angelis interference model with negative binomial distribution of attacks was used.

Table 5. Variation in the frequency of two *C. plutellae* parasitoid types differing by their response to variation in host and parasitoid densities. Poisson-Refuge Model.

Population dynamic parameter	Increments in the parameter range	Variation of the frequency of Benin type
Fraction of host in refuge (α)	0; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 0.6; 0.7; 0.8 →	↓
Patch recovery time (Tr)	0.00; 0.01; 0.02; 0.025; 0.03; 0.04; 0.05 →	↑
Host rate of increase (λ)	4; 8; 12; 16; 20; 24; 28; 32; 36; 40 →	↑
Host carrying capacity (C)	8; 16; 32; 64; 128; 256 →	↑

Evolution of Benin type frequency (type I functional response and sensible to mutual interference), in competition with Martinique type (type II functional response and less sensible to mutual interference), in response to host-parasitoid population dynamic parameters. Beddington-De Angelis interference model with Poisson distribution of attacks with proportional refuge (same proportion in refuge for both parasitoids) was used.

The results of simulations for the Poisson-Refuge model are summarized in Table 5.

For the Poisson-Refuge model, host-parasitoid population dynamics reached either periodic oscillation or stable equilibrium. Coexistence between the two parasitoid types was not possible. The issue of competition depended on first instance on the patch recovery time. For recovery times equal or below the interference time of the Benin type ($Tr \leq Ti_B$) the Martinique type always won the competition. For recovery times exceeding one and a half interference time of the Benin type ($Tr \geq 1.5(Ti_B)$), the Benin type always won, excepted for specific cases of high refuge proportion. For recovery times near to 1.25 the interference time of Benin type ($Tr = 1.25(Tc_B)$), the issue was highly susceptible to host population dynamic parameter values. For this critical value of recovery time, the proportion of Benin parasitoid type increased with host population dynamics parameters.

3.3.2. Consequences for the control of the host

The impact of the parasitoid on its host population was compared between Benin type alone, Martinique alone, and a mixture of both parasitoid types in competition. The relative level of top-down *vs* bottom-up control was estimated by calculating the ratio of host control ($(C-N^*)/C$ where C is the host carrying capacity and N^* is the host population size (at equilibrium or the average of a cycle) (Hochberg & Holt, 1995).

For the Negative-Binomial model, the ratio of host control for Martinique type alone was 0.724 on average (between 0.526 and 0.971) (Martinique type controlled on averaged 72.4% of the host population). Ratio of host control for Benin type alone was 0.601 on average (between 0.526 and 0.971). Martinique type had always a better ratio of host control than Benin type. Martinique ratio of host control was on average 19% better than Benin host ratio of host control, this in all host population dynamic conditions.

For the Poisson-Refuge model, the ratio of host control was always higher (13 % on average) for Martinique type alone than for Benin type alone, except in some specific cases: when the fraction of host in refuge condition was zero, when the host rate of increase was low and when the carrying capacity was high. In these cases, Benin type controlled only 1% better.

The ratio of host control of each type was compared to that of both types in competition. For Negative-Binomial model, the effect of competition on ratio of host control ranged from intermediate to synergic. Competition was synergic when recovery time was low (inferior to interference time of Benin type) and aggregation was reduced (k high) and intermediate when

recovery time, or/and aggregation was/were low. Quantitatively, ratio of host control of both types in competition at equilibrium ranged from -18% to +18% of the ratio of host control of the Martinique type alone (that always exhibited a better ratio of host control, see above) and from 0% to +41% of the Benin type. For common refuge model, the effect of competition was either optimal or inverse-optimal. Since there was no possible coexistence and since Martinique type alone performed nearly always better than Benin alone (see above), ratio of host control was generally optimal (equal to Martinique type's) when Martinique won the competition and inverse-optimal (equal to Benin type's) when Benin type won.

4. Discussion

The comparison of patch exploitation of two *C. plutellae* populations revealed differences in their responses to host and parasitoid densities: Benin population was more efficient in high host densities than Martinique population. The two populations proved able to vary their parasitic activity in function to the hosts patch richness. However under interference conditions, Benin population was more sensible to interference than Martinique population. The consequences for their abilities to control host populations are difficult to predict. The simulations we performed suggest however that Martinique type should perform better in almost all host population dynamic conditions, and parasitoid attack distribution patterns considered in this study.

Simulations of competition between Martinique and Benin types provided a hypothesis concerning the evolutionary reasons for their differences in their interference behaviour and functional response. Equilibrium or average cycle proportions of Benin type generally increased with host carrying capacity or intrinsic rate of increase. The result was always true for Negative-Binomial model and only when recovery time was high enough for the Poisson-Refuge model. The reason for this difference between the two models is likely due to the relative advantage that Martinique parasitoid type got in the aggregated model from reducing its aggregation due to patch leaving in the presence of Benin parasitoid type. This advantage of the Benin type can be interpreted in the light of population dynamic data. The Benin parasitoid type originated from cabbage fields in an agricultural area dominated by cabbage cultures, where host and parasitoid densities are relatively high, during all the year (Goudegnon et al., 2002). The Martinique parasitoid type originated from a habitat where cabbage is grown only during a short period in the year and where host and parasitoid densities are generally low (Bordat, unpublished).

It must be kept in mind that our simulations are based on the hypothesis that Martinique parasitoid type leaves the patch when detected by Benin type. It was assumed that the parasitoid type that spends more time or energy at interacting with other parasitoids (Benin) will force parasitoid type that spends less time or energy at interfering (Martinique) to leave the patch when it detects the other. Laboratory experiments of competition between the two types across several patches are needed to test this hypothesis.

One of the major issues in the application of behavioural ecology to biological control is to predict, from laboratory behavioural measurements, the ratio of host control of parasitoid populations in the field before release. In our simulations, the Martinique type had a better ratio of host control than the Benin type, in most host population dynamic parameter values. However, although Benin type leads to lower ratios of host control, when host population dynamic parameters were high it could out compete Martinique type. Competition issue depended on the attack distribution models. When assuming Negative-Binomial model, both strategies could coexist in sympatry in a wide range of population dynamic parameters. When assuming Poisson-Refuge model, both types could exclude each other. For Negative-Binomial model, ratio of host control was better with both strains in coexistence than with the best of each alone, if patch recovery time was low.

Field and laboratory assessments are needed to validate the hypothesis of our models. Parasitoid attack distributions and the effects of mutual interference on the parasitoid behaviour have to be further investigated.

Chapitre IV

Variation géographique du déterminisme du sexe-ratio chez *Cotesia plutellae*

Chapitre IV

Variation géographique du déterminisme du sexe-ratio chez *Cotesia plutellae*

1. Introduction

Le sexe-ratio est un paramètre important pour la biologie des populations. Particulièrement chez les agents de lute biologique, pour lesquels ce paramètre peut avoir des impacts sur le succès du contrôle des populations cibles. Des sexe-ratios trop biaisés en faveur des mâles peuvent entraîner une baisse des capacités d'accroissement de la population. Réciproquement, des sexe-ratios trop biaisés en faveur des femelles peuvent induire une baisse du taux d'accouplement. Chez les parasitoïdes haplodiploïdes (arrhénotoques), cette situation est compliquée par le fait que les femelles non accouplées ne sont pas stériles mais produisent des mâles. En effet, pour ces espèces les œufs fertilisés (diploïdes) se développent en femelles et les œufs non fertilisés, en mâles (Flanders 1965). Des sexe-ratios "extrêmes" peuvent entraîner des instabilités dans la dynamique populationnelle des parasitoïdes et donc dans les taux de contrôle des ravageurs (voir Hopper & Roush 1993).

Les femelles parasitoïdes haplodiploïdes, dont de nombreuses espèces utilisées en lutte biologique, fertilisent facultativement leurs œufs. Le déterminisme du sexe-ratio est donc sous le contrôle des femelles. De ce fait, il est possible que la sélection naturelle élimine des comportements inadaptés et que les femelles soient capables d'ajuster leur sexe-ratio de façon optimale. Actuellement, il existe un grand nombre d'études concernant les variations du sexe-ratio en fonction des conditions environnementales qui, globalement, montrent une excellente adéquation des modèles théoriques. Plusieurs facteurs environnementaux sont impliqués dans ces modèles. La structure spatiale et temporaire d'accouplement est le facteur le plus étudié, son incidence sur le déterminisme du sexe-ratio est actuellement l'un des domaines les plus fructueux de l'écologie comportementale (Godfray 1994).

Chez de nombreuses espèces de parasitoïdes, les femelles déposent plusieurs œufs dans une même placette d'hôtes ou dans des placettes proches. Les adultes qui émergent de cette ou de ces placettes s'accouplent entre eux après émergence, ce qui conduit à une structuration de l'accouplement entre placettes (i.e. structures locales d'accouplement). Le modèle élaboré par Hamilton (1967) explique comment lorsque les individus s'accouplent à l'intérieur des petits groupes et non de façon panmictique, des sexe-ratios biaisés en faveur des femelles sont

attendus. Chez de nombreuses espèces de parasitoïdes l'accouplement a lieu entre la descendance d'une ou d'un nombre réduit de femelles *fondatrices* qui parasitent sur une placette. Dans ces cas, les femelles peuvent, en biaisant le sexe-ratio de leur descendance en faveur des femelles, augmenter leur valeur sélective. En effet, en pondant plus de filles que de fils, elles réduisent la compétition entre leurs fils pour l'accès aux accouplements et augmentent leur nombre de filles. Lorsque la taille des groupes d'accouplement est importante le sexe-ratio prédict par Hamilton s'approchera du modèle de panmixie, et donc des sexe-ratios équilibrés (Fisher 1930). Ce modèle connu sous le nom de "*Local Mate Competition*" (LMC), prédict que le sexe-ratio optimal dépend donc du nombre de femelles fondatrices. L'information sur le nombre de femelles fondatrices permettrait à celles-ci d'estimer la taille des groupes d'accouplement : une femelle seule produirait uniquement une proportion de fils suffisante pour accoupler ses soeurs, la présence de compétitrices augmenterait la proportion de mâles nécessaire.

Des travaux expérimentaux menés pour évaluer l'occurrence de la LMC ont montré qu'elle décrit bien, au moins de façon qualitative, le comportement de certaines femelles parasitoïdes chez des espèces tant solitaires que grégaires (Charnov 1982, Werren 1980, Godfray 1994).

Pour que le modèle de la LMC s'applique, les individus émergeant d'une même placette doivent pouvoir se rencontrer et s'accoupler. Selon Fauvergue et al. (1999), une de deux hypothèses doivent être satisfaites : (i) s'il y a protandrie, les mâles doivent attendre sur leur placette l'émergence des femelles et (ii) s'il n'y a pas protandrie, mâles et femelles doivent émerger et s'accoupler simultanément avant de se disperser. Selon le modèle proposé par Hamilton (1967) le sexe-ratio optimal a la formulation : $SR^* = (n - 1)/2n$, où SR^* est le sexe-ratio, défini ici comme la proportion de mâles optimale et n , la densité de fondatrices, définie ici comme le nombre de femelles par placette. Ce modèle suppose une LMC "stricte" où tous les individus s'accouplent sur leur placette d'émergence. Taylor & Bulmer (1980) ont relaxé cette hypothèse en incluant dans le modèle le paramètre p , qui correspond à la probabilité que les individus s'accouplent sur la placette d'émergence. Les auteurs proposent ainsi un modèle de LMC "partielle" (voir Debout et al. 2002 et Hardy 1994) où la dispersion des mâles est prise en compte. Ce modèle présente la formulation : $SR = (n - p)/2n$. Le paramètre p caractérise donc des structures d'accouplement variables et pouvant différer en fonction des modèles biologiques et des conditions environnementales. Lorsque la valeur de p est fixée à 1,

nous retrouvons le modèle de LMC "stricte" de Hamilton (1967) et lorsque la valeur de p est fixée à 0, nous retrouvons le modèle de Fisher (1930), correspondant à la panmixie complète.

D'autres facteurs que la présence de congénères, ont été montrés comme induisant des réponses en termes de sexe-ratio, principalement des caractéristiques liées à la qualité de l'hôte. Holmes (1972) a montré que le sexe-ratio peut être modifié si l'hôte rencontré est déjà parasité. La taille de l'hôte (Klomp & Teerink 1962, Godfray 1994) et sa densité (Colazza & Wajnberg 1998, Bayram et al. 2004) influencent les décisions des femelles. Charnov (1982) a modélisé le déterminisme du sexe-ratio en fonction de la qualité de l'hôte. Il a montré que la valeur sélective des femelles est maximisée lorsqu'elles ajustent leur sexe-ratio en fonction des conditions de l'hôte retrouvé, des femelles devant être pondus dans (sur) les hôtes de meilleure qualité.

Des populations du parasitoïde solitaire *Cotesia plutellae* présentent des différences génétiques et morphométriques importantes (Chapitre II) qui permettent de les classer en deux groupes. Les populations du Bénin et de Martinique appartiennent chacune à un de ces groupes et sont incompatibles reproductivement. Dans le Chapitre III, nous avons mis en évidence que leur réponse à la densité hôte et à l'interférence mutuelle est aussi différenciée. Les femelles de la population du Bénin sont davantage sensibles à la présence de congénères dans la zone de recherche que celles de Martinique. Les dynamiques populationnelles sur le terrain sont très différentes entre ces deux localités : au Bénin, la densité d'hôtes est haute et peut atteindre 400 larves hôte (*Plutella xylostella*) par plante. La densité de parasitoïdes est aussi importante. En Martinique, les densités d'hôtes et de parasitoïdes sont plus faibles (Bordat, observation personnelle). Ces différences écologiques nous ont conduits à étudier la différenciation entre populations pour le déterminisme du sexe-ratio. Ce déterminisme pourrait être étroitement lié au comportement d'interférence qui est aussi une réponse à la présence de compétitrices, et pourrait aussi être une réponse adaptative à des conditions environnementales particulières. Dans ce chapitre, nous étudierons la différenciation entre ces deux populations de *C. plutellae*, originaires du Bénin et de Martinique, pour leur déterminisme du sexe-ratio. D'un point de vue évolutif, nous étudierons si les femelles issues de deux populations adaptent leur sexe-ratio en réponse à des variations de densité de femelles et si ces variations suivent les règles de la LMC (expérience 1). D'un point de vue plus mécanistique, nous étudierons d'autres facteurs qui peuvent être liés au sexe ratio et éventuellement biaiser les réponses à la densité de femelles fondatrices. Ces facteurs seront les suivants :

- **L'âge des femelles.** Ce facteur peut induire des modifications non adaptatives sur le sexe-ratio, du fait de la déplétion du contenu de la spermathèque, par exemple. Une seule éjaculation peut ne pas être suffisante pour fertiliser l'ensemble des œufs produits par une femelle au cours de sa vie. S'accoupler avec plusieurs mâles pourrait constituer une réponse adaptative évitant cette déplétion, qui de plus offre des avantages de type génétique. Par exemple, il est possible que la femelle retrouve des mâles de meilleure qualité après un premier accouplement ou que produire une descendance de pères différents, donc plus hétérogène puisse lui conférer une valeur sélective plus importante (revu par Godfray 1994). Malgré ces avantages, il a été montré que pour de nombreuses espèces, les femelles ne s'accouplent qu'une seule fois. Cela semble être le cas pour *C. plutellae* (voir Kawaguchi & Tanaka 1999).
- **L'effet du superparasitisme sur le sexe-ratio.** Des différences de la mortalité mâle et femelle durant le développement peuvent induire des variations par rapport aux sexe-ratios primaires (Nagelkerke & Hardy 1994), cela particulièrement sous conditions de superparasitisme. Van Baaren et al. (1999) ont montré que chez le parasitoïde *Anaphes victus* Huber (Hymenoptera : Mymaridae) la mortalité des mâles est plus importante que la mortalité de femelles en cas de superparasitisme. Cette mortalité est compensée par une augmentation de la proportion de mâles pondus lors du superparasitisme. Au cours de cette thèse, nous avons mis en évidence des différences entre les populations de Martinique et du Bénin pour leur comportement de superparasitisme (Chapitre V). Nous étudierons ici ce facteur pour déterminer si les sexe-ratios produits par les femelles des deux populations sont affectés par leur comportement de superparasitisme.
- **Le patron d'émergence mâle et femelle.** Comme il a été noté précédemment, pour que le modèle de la LMC s'applique, les individus émergeant d'une même placette doivent pouvoir se rencontrer et s'accoupler. L'importance de l'accouplement local pourrait ainsi être influencée par le degré de protandrie de la population. Nous étudierons ce facteur afin de déterminer si des différences dans le patron d'émergence des mâles et des femelles entre populations peuvent être responsables des structures d'accouplement déterminées pour les populations lors de cette étude.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel biologique

Des larves de *P. xylostella* ont été récoltées au Bénin (aire de Cotonou) et en Martinique (localité de Lamentin) sur des champs cultivés de chou pommé (*Brassica oleracea* subsp. *capitata* L.). Les parasitoïdes émergeants des larves parasitées ont été identifiés par G. Delvare (CIRAD) comme appartenant à l'espèce *C. plutellae* et utilisés pour fonder des élevages au laboratoire. Ils ont été élevés pendant 4 à 5 générations avant les expériences. Les populations du Bénin et de la Martinique présentent l'intérêt d'être différencierées génétiquement et morphométriquement (Chapitre I). Une population de *P. xylostella* originaire du sud de la France a été élevée et utilisée comme hôte pour l'ensemble des expériences. La plante hôte utilisée pour l'ensemble des expériences a été le chou pommé. La procédure de récolte et d'élevage des insectes est détaillée dans Rincon et al. (2006).

Les femelles de chaque population de *C. plutellae* utilisées dans l'ensemble des expériences présentaient des conditions physiologiques "standard" : elles étaient âgées de 24-48 h (sur une longévité moyenne de 10 jours), avaient été en présence de mâles pendant 24 heures et avaient été nourries avec du miel pur. De la même façon, les larves hôte ont été élevées en conditions standard et utilisées au stade L3 dans toutes les expériences.

2.2. Expérience 1 : Effet de la densité des mères sur le sexe-ratio de leur descendance

Des groupes de 1, 2, 4 ou 8 femelles "standard" ont été isolés en présence de 120 larves hôte L3, placées sur une feuille de chou dans une boîte en plastique (30 × 27 × 10 cm) à grille métallique pour aération. Chaque boîte constituait une unité expérimentale. Vingt-quatre h après exposition, les parasitoïdes ont été retirés et les larves élevées jusqu'à l'émergence de la nouvelle génération de parasitoïdes. L'ensemble des individus émergés dans chaque unité expérimentale a été sexé. Des témoins sans parasitoïdes ont été réalisés dans les mêmes conditions, afin d'estimer la mortalité "naturelle" de l'hôte (comprenant aussi la mortalité due à la manipulation). La mortalité naturelle a été estimée par la proportion moyenne de larves hôte qui n'ont pas atteint l'état de pupe en absence du parasitoïde.

Dans l'objectif de déterminer la mortalité induite par le parasitoïde, le nombre de larves hôte qui ont atteint l'état de pupe dans chaque unité expérimentale (i.e. individus échappant au parasitisme) a été enregistré. La mortalité induite par le parasitoïde a été donc estimée par 1

moins la proportion individus échappant au parasitisme, corrigée par la mortalité naturelle de l'hôte. Sept répétitions ont été réalisées par population de parasitoïde et par densité de femelle.

2.3. Expérience 2 : Effet de l'âge des mères sur le sexe-ratio de leur descendance

Nous avons mené cette expérience à fin de déterminer les effets de l'âge des femelles (l'épuisement de la spermathèque, des problèmes mécaniques durant le transfert de spermatozoïdes, associées à l'âge) sur le déterminisme du sexe-ratio. L'âge des femelles pourrait être un facteur de distorsion des sexe-ratios qui modifierait les sexe-ratios ajustés en fonction des conditions de densité de femelles, étudiées lors de l'expérience 1.

Vingt et une femelles "standard" issues de la population du Bénin et 26 de la population de Martinique ont été isolées individuellement dans des boîtes plastiques ($30 \times 27 \times 10$ cm) à grille métallique pour aération. Toutes les 24 h, 40 larves hôte L3 ont été exposées à chaque mère jusqu'à sa mort. Les larves exposées ont été récupérées chaque jour et élevées jusqu'à l'émergence des parasitoïdes. Le nombre de mâles et de femelles dans la descendance de chaque femelle, chaque jour, a été enregistré.

2.4. Expérience 3 : Effet du superparasitisme sur le sexe-ratio

L'objectif de cette expérience a été de comparer le sexe-ratio produit dans l'expérience 1, où le superparasitisme a été permis (les femelles ont été confinées avec les larves hôte pendant 24 heures), avec le sexe-ratio produit sous conditions de monoparasitisme. Les différences dans le sexe-ratio entre les deux populations mises en évidence lors de l'expérience 1 pouvaient être induites des différences entre les populations pour leur comportement de superparasitisme (voir Chapitre V). Le superparasitisme aurait pu entraîner des mortalités différentes entre mâles et femelles (Van Baaren et al. 1999). Malgré que cette expérience n'a pas pu être réalisée pour la population de Martinique à cause de problèmes logistiques, elle nous a permis de comparer le sexe-ratio produit *sans* et *avec* superparasitisme et donc d'inférer sur les conséquences du comportement de superparasitisme sur la distorsion des sexe-ratios produits lors de l'expérience 1.

Pour l'obtention des larves monoparasitées, des mères "standard" ont été isolées individuellement avec 40 larves hôte L3. Leur comportement a été observé directement. Lorsque la femelle introduisait l'ovipositeur dans une larve hôte, la larve était prélevée, isolée dans une boîte et immédiatement remplacée par une larve saine. Lorsque la femelle arrêtait de parasiter pendant un délai de cinq minutes, l'expérience était arrêtée. Les larves hôte

parasitées ont été élevées isolément jusqu'à l'émergence des parasitoïdes. L'ordre des pontes (mâle ou femelle) de chaque femelle a été évalué. L'expérience a été répétée 20 fois.

2.5. Expérience 4 : Patron d'émergence mâle et femelle : l'évolution du sexe-ratio au cours du temps

A fin de déterminer si des différences dans le patron d'émergence des mâles et des femelles entre populations pouvaient biaiser les structures d'accouplement attendues pour les populations lors de l'expérience 1 (voir résultats), nous avons mené cette expérience. Malheureusement, elle n'a pas pu être réalisée pour la population de Martinique, à nouveau à cause de problèmes logistiques. Nous présentons les résultats obtenus pour la population du Bénin.

Un ensemble d'environ 400 larves hôte L3 a été exposé à une vingtaine de femelles parasitoïdes du Bénin "standard", durant 6 h et élevées jusqu'à l'émergence des parasitoïdes. A intervalles de 4 h, les adultes émergeants ont été isolés et sexés.

2.6. Procédures statistiques

2.6.1. Expérience 1 : Densité des mères et sexe-ratio

Les sources de variation de différentes variables dépendantes ont été analysées à l'aide de modèles linéaires généralisés (*glm*). Les variables indépendantes étaient l'origine de la population et la densité de femelles. Les variables dépendantes étaient la mortalité hôte induite par le parasitoïde, le nombre d'adultes produits, le nombre de mâles, le nombre de femelles et le sexe-ratio. Les variables mortalité hôte induite par le parasitoïde et sexe-ratio ont été analysés en supposant des distributions des erreurs binomiales. Les autres variables ont été analysées en supposant des distributions de Poisson. La sur-dispersion et/ou la sous-dispersion des données a été contrôlée par des tests χ^2 sur la déviance résiduelle. Lorsque la sur-dispersion ou et/ou la sous-dispersion se sont avérées significatives, un paramètre de dispersion a été utilisé dans les analyses. Les pentes de régression ont été utilisées pour quantifier les réponses aux différentes sources variations

2.6.1.1. Quelle structure d'accouplement explique le mieux nos données ?

Dans une première étape, les modèles de Hamilton (lorsque le paramètre $p = 1$ ou LMC stricte), de Fisher (lorsque le paramètre $p = 0$ ou panmixie) et de Taylor & Bulmer (modèle intermédiaire ou de LMC *partielle*) ont été comparés par leur ajustement aux données de sexe-ratio de deux populations. Le sexe-ratio était considéré comme une variable binomiale

intégrant les données de production de mâles et femelles. Le paramètre p a été estimé pour le modèle de Taylor & Bulmer. La méthode de maximum de vraisemblance a été utilisée pour l'ensemble des estimations. Les modèles de Hamilton et Fisher, ayant le même nombre de degrés de liberté, ont été comparés par leur *AIC* (Akaike Information Criterion). Le modèle de Taylor & Bulmer a été comparé avec les deux autres par des tests de rapport de vraisemblance (*LRT* : Likelihood Ratio Test) (Johnson & Omland 2004).

Il s'est avéré que pour les deux populations le modèle de Taylor & Bulmer était le plus ajusté. Néanmoins l'estimation du paramètre p était négative. En effet les sexe-ratios reportés dans cette étude sont souvent biaisés en faveur des mâles, ce qui n'est pas prévu par les modèles (en général, les sexe-ratios des parasitoïdes haplodiploïdes sont biaisés en faveur des femelles) et qui a entraîné des estimations de p négatives. Nous considérons que l'excès de mâles que nous retrouvons concerne une proportion des femelles *contraintes* à ne produire que des mâles (e.g. Fauvergue et al. 1998, Debout et al. 2002). Nous avons donc introduit dans les trois modèles un paramètre p' qui permet de modéliser la proportion de femelles contraintes à ne produire que des mâles. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer ces contraintes biologiques imposées à certaines femelles : (i) la prévalence partielle de *Wolbachia* chez la population de Martinique qui induirait chez certaines femelles des incompatibilités cytoplasmiques (voir Chapitre I) et donc une surproduction de mâles, (ii) des échecs lors de la fécondation des femelles (iii) d'autres contraintes de type expérimental non contrôlées dans cette étude (voir discussion). Nous avons utilisé la formulation suivante :

$$SR^* = p' [(n - p) / 2n] + (1 - p')$$

Où p' est la proportion de femelles non contraintes qui ajusteraient leur sexe-ratios en fonction de la densité de fondatrices (LMC), soit $SR^* = (n - p)/2n$ et $1 - p'$, la proportion de femelles contraintes qui ne produisent que des mâles, soit $SR = 1$.

L'ajustement de ces modèles ainsi que l'estimation des paramètres p et p' ont aussi été réalisés, à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance. Les paramètres p et p' ont été estimés pour le modèle de Taylor & Bulmer et seul le paramètre p' a été estimé pour les modèles de Hamilton et de Fisher (p fixé à 1 et à 0 respectivement). La méthode de maximum de vraisemblance a donc permis d'estimer les effets dépendants de la densité de fondatrices (p) et d'autres effets non densité-dépendants pouvant conduire à des sexe-ratios biaisés en faveur des mâles (p').

2.6.2. Expérience 2 : Age des mères et sexe-ratio

La méthodologie des tables de vie a été utilisée pour le calcul des statistiques relatives à la descendance femelle (analyse classique) mais aussi à la descendance mâle et à la descendance totale en fonction de l'âge des femelles. Les tables de vie ont été construites avec des données concernant la production de descendance mâle et femelle de chacune des femelles d'une cohorte durant chaque intervalle d'âge (un jour pour notre cas) et au cours de leur vie, cela pour chacune des deux populations. La méthodologie utilisée a été celle décrite par Southwood (1978) avec quelques ajustements pour notre étude. Des paramètres écologiques et démographiques décrits ci-dessous, utiles dans les études de dynamique de populations animales ont été estimés.

La construction des tables de vie nous a permis d'estimer des paramètres populationnelles concernant des taux nets de production de mâles et des femelles ainsi que des paramètres concernant la distribution temporelle de l'effort reproductif des femelles au cours de leur vie. Ils se sont avérés particulièrement intéressantes pour étudier les effets de l'âge sur le sexe ratio de la descendance et leur variation entre populations.

Le taux net de reproduction R_o est défini comme la contribution de chaque femelle en termes de descendance femelle à la génération suivante. Il est normalement calculé en prenant compte uniquement de la production de femelles (i.e. les descendants qui produiront des descendants) et de la mortalité :

$$R_o = \sum l_x m_x$$

où m_x est le nombre de femelles produites durant l'intervalle d'âge x , et l_x est la probabilité de survivre à l'âge x . Nous avons modifié le paramètre pour estimer aussi la contribution de chaque femelle en termes de descendance mâle et adulte à la génération suivante. Cela, de la façon suivante :

$$R_{op} = \sum l_x m_{xp} \text{ et } R_{oa} = \sum l_x m_{xa}$$

Où R_{op} et R_{oa} sont des taux nets de production de mâles et d'adultes respectivement, m_{xp} et m_{xa} sont les nombre de mâles et d'adultes produits durant l'intervalle d'âge x , respectivement.

Le temps moyen générational T_g représente la durée moyenne entre deux générations :

$$T_g = (\sum x l_x m_x / \sum l_x m_x)$$

Avec x l'intervalle d'âge des femelles. Afin d'estimer l'âge adulte ou l'effort reproductif est concentré, nous avons soustrait à T_g la durée moyenne des états immatures pour estimer un âge moyen de reproduction (A_m):

$$A_m = T_g - \text{durée des états immatures}$$

De la même façon que pour R_o , ce paramètre ne prend en compte que la production de femelles. Nous l'avons modifié pour estimer A_{mp} et A_{ma} les âges moyens de production de mâles et d'adultes, respectivement. Ces âges correspondent à ceux où l'effort reproductif pour produire des mâles et des adultes est concentré, respectivement :

$$A_{mp} = (\sum x l_x m_{xp} / \sum l_x m_{xp}) \text{ et } A_{ma} = (\sum x l_x m_{xa} / \sum l_x m_{xa})$$

Ces paramètres démographiques ont été calculés pour chaque population. Des intervalles de confiance ont été calculés par la méthode du Jackknife tel qu'elle a été proposée par Maia et al (2000). Un algorithme pour effectuer leur calcul sur le logiciel R a été développé. Des tests *t-student* ont été effectués pour comparer les paramètres entre populations.

Des régressions linéaires généralisées (*glm*) hiérarchisées ont été effectuées avec le sexe-ratio comme variable dépendante et l'origine de la population, la femelle et son âge comme variables indépendantes. La variable sexe-ratio a été analysée avec une distribution des erreurs binomiale. La signification de la régression a été estimée par des tests de χ^2 de degré de liberté 1, sur la différence de déviance due au paramètre de pente de régression. La pente de régression a été utilisée pour évaluer la réponse en termes de sexe-ratio aux variations de l'âge des femelles.

2.6.3. Expérience 3 : Superparasitisme et sexe-ratio

Le sexe-ratio obtenu en condition de monoparasitisme a été comparé à celui obtenu en conditions de superparasitisme permis (au premier jour de l'expérience 2). Une régression linéaire généralisée (*glm*) avec le sexe-ratio des individus comme variable dépendante (binomiale) et les conditions de mono- ou superparasitisme comme variable explicative, a été effectuée. La significativité de la régression est déterminée par des tests de χ^2 à un degré de liberté sur la différence de déviance due au paramètre de régression.

2.6.4. Expérience 4 : Temps de développement mâle et femelle et sexe-ratio

Des régressions linéaires généralisées (*glm*) ont été effectuées avec le sexe-ratio des individus émergés pendant chaque intervalle comme variable dépendante (binomiale) et le temps comme variable explicative. La significativité de la régression est déterminée par des tests de χ^2 à un degré de liberté sur la différence de déviance due aux paramètres de régression.

3. Résultats

3.1. Expérience 1 : Effet de la densité des mères sur le sexe-ratio

Toutes densités de femelles confondues, **la mortalité hôte induite par le parasitoïde** a été de 72,23 ($\pm 1,7$) % des hôtes exposés pour la population du Bénin, et de 69,89 ($\pm 1,96$) % pour la population de Martinique. Elle n'est pas significativement différente entre populations (*glm* Binomial; $\chi^2 = 3,66$; $dl= 1$; NS). Lorsque les différences entre populations sont analysées pour chaque densité de mères séparément, on n'observe pas de différence significative, à l'exception de la densité 1 mère (Tableau 1). Pour la population du Bénin, la densité de mères n'est pas corrélée à la mortalité induite (*glm* Binomial : *pente de régression* = -0,03; NS). En revanche, pour la population de Martinique la mortalité induite augmente avec la densité de mères (*glm* Binomial : *pente de régression* = 0,09; $p = 0,01$).

Toutes densités de femelles confondues, **le nombre d'adultes** produits est significativement plus élevé pour la population du Bénin ($56,5 \pm 2,32$) que pour celle de Martinique ($48,00 \pm 2,92$) (*glm* Poisson; $\chi^2= 17,00$; $dl= 1$; $p< 0,05$). Néanmoins, lorsque la production d'adultes est évaluée séparément pour chaque densité de mères, la différence entre populations n'est significative que pour la densité de 1 mère (Tableau 1). La production d'adultes ne dépend pas de la densité de mères pour la population du Bénin (*glm* Poisson :

pente de régression = 0,03; NS) mais augmente significativement avec la densité de mères pour la population de Martinique (*glm Poisson* : *pente de régression* = 0,07; $p < 0,01$).

Toutes densités de femelles confondues, **le nombre de mâles** produits est en moyenne de 31,25 ($\pm 1,71$) pour la population du Bénin et de 25,55 ($\pm 2,48$) pour celle de Martinique. Les différences entre les deux populations ne sont pas significatives (*glm Poisson*; $\chi^2 = 17,00$; $dl = 1$; NS). Lorsque la production d'adultes est évaluée pour chaque densité de mères séparément, la différence entre populations n'est significative que pour la densité de 1 mère (*glm Poisson*; 1 femelle : $\chi^2 = 43,41$; $dl = 1$; $p > 0,001$; 2 femelles : $\chi^2 = 6,60$; $dl = 1$; NS; 4 femelles : $\chi^2 = 1,73$; $dl = 1$; NS; 8 femelles : $\chi^2 = 0,18$; $dl = 1$; NS). De la même façon que pour la production d'adultes, la production de mâles ne dépend pas de la densité de mères pour la population du Bénin (*glm Poisson* : *pente de régression* = 0,02; NS), mais augmente avec la densité de mères pour la population de Martinique (*glm Poisson* : *pente de régression* = 0,11; $p < 0,01$).

Toutes densités de femelles confondues, **le nombre de femelles** produit pour 120 larves est en moyenne de 25,25 ($\pm 1,98$) pour la population du Bénin et de 22,45 ($\pm 1,76$) pour celle de Martinique. Les différences entre les deux populations ne sont pas significatives (*glm Poisson*; $\chi^2 = 4,03$; $dl = 1$; NS). Lorsque l'on compare cette production pour chaque densité de mères séparément, la différence entre populations n'est significative que pour la densité de 4 mères (Tableau 1). Pour les deux populations, la production de femelles ne change pas significativement avec la densité de mères (*glm Poisson* : Benin : *pente de régression* = 0,03; NS; Martinique : *pente de régression* = 0,01; NS).

Toutes les densités de femelles confondues, **le sexe-ratio** (proportion de mâles) produit en moyenne par les mères du Bénin est de 0,56 ($\pm 0,03$) et par celles de Martinique est de 0,53 ($\pm 0,03$). Globalement il n'y a pas eu de différence significative entre populations (*glm Binomial*; $\chi^2 = 1,11$; $dl = 1$; NS). Néanmoins, étudiées séparément pour chaque densité de mères, les différences apparaissent significatives pour les densités de 1 et de 4 mères (Tableau 1). Comme pour la mortalité induite, la production d'adultes et la production de mâles, le sexe-ratio est indépendant de la densité de mères pour la population du Bénin (*glm Binomial* : *pente de régression* = 0,01; NS) et augmente significativement avec la densité de mères pour la population de Martinique (*glm Binomial* : *pente de régression* = 0,10; $p < 0,05$). Ce n'est donc pas la valeur moyenne, mais la réponse à la densité qui diffère entre les deux populations.

Tableau 1. Comparaison des deux populations de *C. plutellae* pour la mortalité hôte induite, la production de descendants et leur sexe-ratio, en fonction de la densité de mères. Les valeurs de χ^2 significatifs sont indiquées en gras.

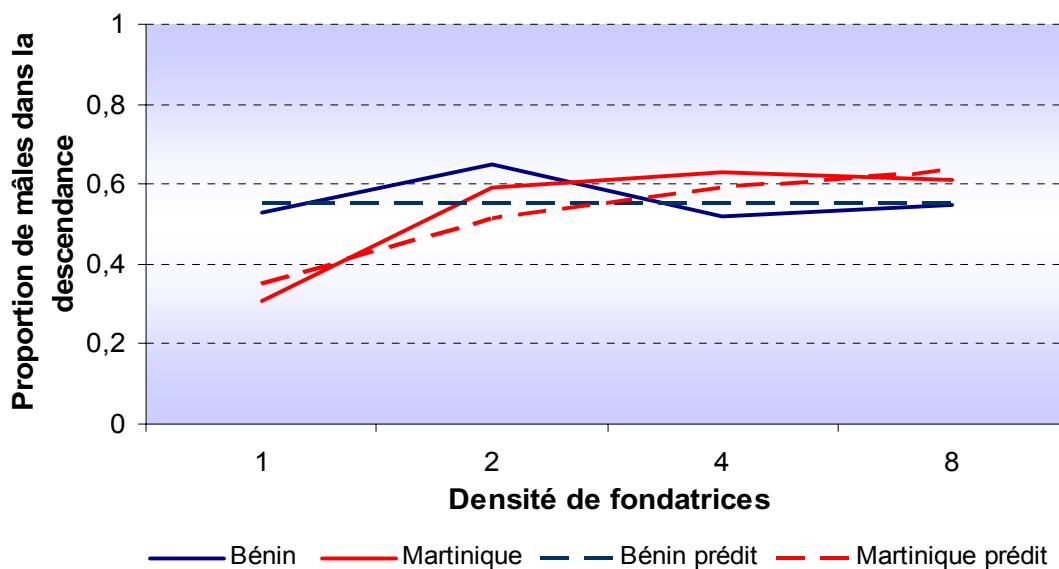
Variable		Densité de mères			
		1	2	4	8
Mortalité induite	Bénin	78,27 ± 5,34	68,75 ± 2,90	71,37 ± 0,88	70,54 ± 2,35
	Martinique	66,55 ± 4,01	66,83 ± 4,00	67,83 ± 1,31	79,67 ± 4,04
	glm Binomial	$\chi^2 = \mathbf{28,76}$	$\chi^2 = 0,48$	$\chi^2 = 2,00$	$\chi^2 = 15,76$
		$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$
		$p < 0,001$	NS	NS	NS
Production d'adultes	Bénin	52,26 ± 3,66	49,86 ± 4,95	62,71 ± 5,63	61,14 ± 2,69
	Martinique	39,71 ± 3,38	38,80 ± 4,42	55,20 ± 6,18	61,60 ± 5,47
	glm Poisson	$\chi^2 = \mathbf{12,07}$	$\chi^2 = 8,01$	$\chi^2 = 2,78$	$\chi^2 = 0,01$
		$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$
		$p = 0,01$	NS	NS	NS
Production de mâles	Bénin	27,86 ± 2,35	31,29 ± 5,29	32,29 ± 3,63	33,57 ± 1,81
	Martinique	12,29 ± 1,49	23,4 ± 3,97	36,8 ± 4,3	35 ± 2,79
	glm Poisson	$\chi^2 = \mathbf{43,41}$	$\chi^2 = 6,60$	$\chi^2 = 1,73$	$\chi^2 = 0,18$
		$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$
		$p > 0,001$	NS	NS	NS
Production de femelles	Bénin	24,43 ± 1,66	18,57 ± 6,41	30,43 ± 3,4	27,57 ± 1,38
	Martinique	27,43 ± 2,72	15,4 ± 1,21	18,4 ± 3,12	26,6 ± 4,66
	glm Poisson	$\chi^2 = 1,22$	$\chi^2 = 1,72$	$\chi^2 = \mathbf{17,22}$	$\chi^2 = 0,10$
		$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$
		NS	NS	$p < 0,05$	NS
Sexe-ratio	Bénin	0,53 ± 0,02	0,65 ± 0,10	0,52 ± 0,03	0,55 ± 0,01
	Martinique	0,31 ± 0,03	0,59 ± 0,04	0,63 ± 0,05	0,61 ± 0,05
	glm Binomial	$\chi^2 = \mathbf{32,56}$	$\chi^2 = 0,31$	$\chi^2 = \mathbf{16,17}$	$\chi^2 = 0,26$
		$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$	$dl = 1$
		$p > 0,001$	NS	$p > 0,01$	NS

Les sexe-ratios suivent-ils les modèles théoriques de LMC ?

Le Tableau 2 montre les valeurs de l'*AIC* et les paramètres estimés pour trois modèles de structure d'accouplement. Pour la population du Bénin, le modèle de Fisher (i.e. panmixie) explique significativement mieux le déterminisme du sexe-ratio que les deux autres modèles (Taylor & Bulmer vs Fisher : $\chi^2 = 0,03$; $dl = 1$, NS). Le sexe-ratio de cette population n'est pas déterminé par la densité de femelles. Le paramètre p' indique l'existence d'une proportion de femelles contraintes entre 0,07 et 0,14 (intervalle de confiance 95%) à l'origine d'un léger excès dans la production de mâles par rapport au sexe-ratio de 0,5 prédit sous l'hypothèse de panmixie.

Pour la population de Martinique, c'est le modèle de Hamilton qui explique le mieux les données (Taylor & Bulmer vs Hamilton : $\chi^2 = 0,36$; $dl = 1$, NS). Si l'on est à l'optimum évolutif, la probabilité prédite d'accouplement sur la placette est de 1. Le paramètre p' indique l'existence d'une proportion de femelles contraintes entre 0,32 et 0,38 (intervalle de confiance 95%) à l'origine d'un excès dans la production de mâles par rapport aux sexe-ratios prédits sous conditions de LMC stricte. La Figure 1 montre les valeurs prédites par les modèles modifiés de Fisher (pour Bénin) et de Hamilton (pour Martinique) ainsi que les valeurs obtenues expérimentalement.

Figure 1. Réponse en termes de sexe-ratio aux variations de la densité de fondatrices chez deux populations de *C. plutellae*.



En pointillé, les prédictions des modèles de structure d'accouplement de Fisher (pour Bénin) et de Hamilton (pour Martinique) modifiés pour prendre en compte la proportion de femelles contraintes à la production exclusive de mâles (voir dans le texte).

Tableau 2. Ajustement des modèles théoriques de structure d'accouplement sur des données de sexe-ratio de deux populations de *C. plutellae* originaires du Bénin et de Martinique.

Population	Modèle		
	Hamilton	Fisher	Taylor & Bulmer
Bénin	<i>AIC</i> = 331,08 <i>p</i> = 1 <i>p'</i> = 0,60 ± 0,01	<i>AIC</i> = 264,94 <i>p</i> = 0 <i>p'</i> = 0,89 ± 0,02	<i>AIC</i> = 265,91 <i>p</i> = - 0,01 ± 0,06 <i>p'</i> = 0,90 ± 0,03
Martinique	<i>AIC</i> = 157,08 <i>p</i> = 1 <i>p'</i> = 0,65 ± 0,01	<i>AIC</i> = 219,02 <i>p</i> = 0 <i>p'</i> = 0,93 ± 0,02	<i>AIC</i> = 157,72 <i>p</i> = 1,11 ± 0,14 <i>p'</i> = 0,62 ± 0,03

En fonction de leurs degrés de liberté, les modèles sont comparées, soit par le critère *AIC* (comparaison Hamilton vs Fisher) soit par le test LRT (comparaisons Hamilton ou Fisher vs Taylor & Bulmer). En gras figurent les valeurs *AIC* des modèles retenus.

3.2. Expérience 2 : Effet de l'âge des mères sur le sexe-ratio

Le sexe-ratio est corrélé significativement à l'âge des mères pour les deux populations étudiées (*glm Binomial* : Benin : *pente de régression* = 0,12; *p* < 0,001; Martinique : *pente de régression* = 0,06; *p* < 0,001). Des mères plus âgées produisent une proportion de mâles plus importante que des mères jeunes (Figure 2).

Tous âges confondus, la population du Bénin a produit un sexe-ratio de 0,70 ± 0,02 et celle de Martinique de 0,72 ± 0,02. L'analyse globale sur l'ensemble des âges, n'a pas montré de différence significative entre les sexe-ratios moyens des deux populations (*glm Binomial* : $\chi^2 = 0,04$; *dl* = 1; *NS*). L'analyse par âge n'a montré de différences significatives pour aucun des âges (tests non montrés).

Malgré que les sexe-ratio *finaux* des deux populations ne soient pas significativement différents, les mécanismes déterminant le sexe-ratio semblent différents. Il convient de distinguer les mères produisant à la fois des mâles et des femelles (notées " ♂♀ ") de celles ne produisant que des mâles (notées " ♂- "). Pour la population du Bénin presque toutes les mères

(85,71% ; 18 sur 21) produisent à la fois des mâles et des femelles. Seules 3 sur 21 ne produisent que des mâles. En revanche, pour la population de Martinique seules 53,85 % des mères (14 sur 26) produisent des mâles et des femelles, tandis que 12 sur 26 ont produit exclusivement des mâles. Les sexe-ratios produits par les mères productrices de mâles et de femelles sont significativement différentes entre la Martinique (Martinique♂♀) et le Bénin (Bénin♂♀) (*glm Binomial* : $\chi^2 = 132,82$; $dl = 1$; $p < 0,001$) (Figure 2).

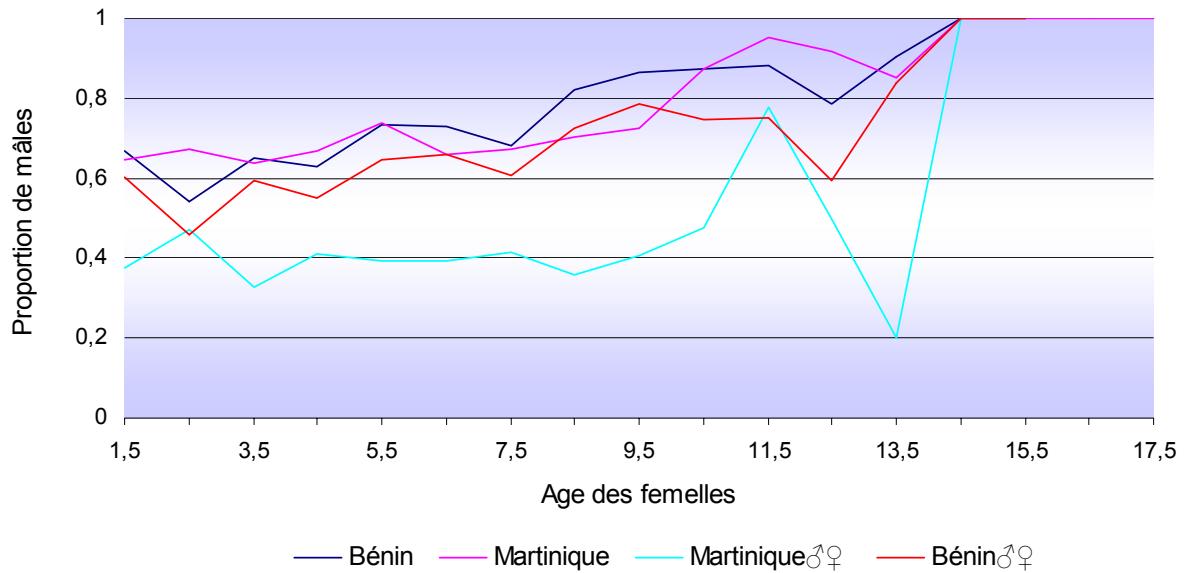
Comparaison de paramètres démographiques

La survie journalière des mères des deux populations dépend de leur âge (Figure 3). Des coefficients de régression linéaire élevés entre l'âge des femelles et la proportion de survivants indiquent que la mortalité journalière augmente de façon purement linéaire avec l'âge (*lm* Bénin : $R^2 = 0,97$; *pente de régression* = -1,34; $p < 0,001$; Martinique : $R^2 = 0,96$; *pente de régression* = -1,71; $p < 0,001$). Pour les deux types de mères de la cohorte de Martinique, Martinique♂♀ et Martinique♂-, la mortalité semble suivre également une ligne droite (*lm* Martinique♂♀ : $R^2 = 0,95$; *pente de régression* = -1,20; $p < 0,001$; Martinique♂- : $R^2 = 0,94$; *pente de régression* = -0,74; $p < 0,001$).

La longévité moyenne des mères a été de 11,29 ($\pm 0,92$) jours pour Bénin et de 10,69 ($\pm 0,78$) jours pour Martinique. Aucune différence significative n'est observée entre les deux populations (*t-student* = 0,49; $dl = 41,84$; NS). Si l'on distingue les deux types de mères Martinique♂♀ et Martinique♂- la longévité des premières a été de 9,33 ($\pm 0,87$) jours et celles des dernières de 12,08 ($\pm 1,26$) jours. Les différences entre les deux types de femelles ne sont cependant pas significatives (*t-student* = 1,79; $dl = 20,24$; NS).

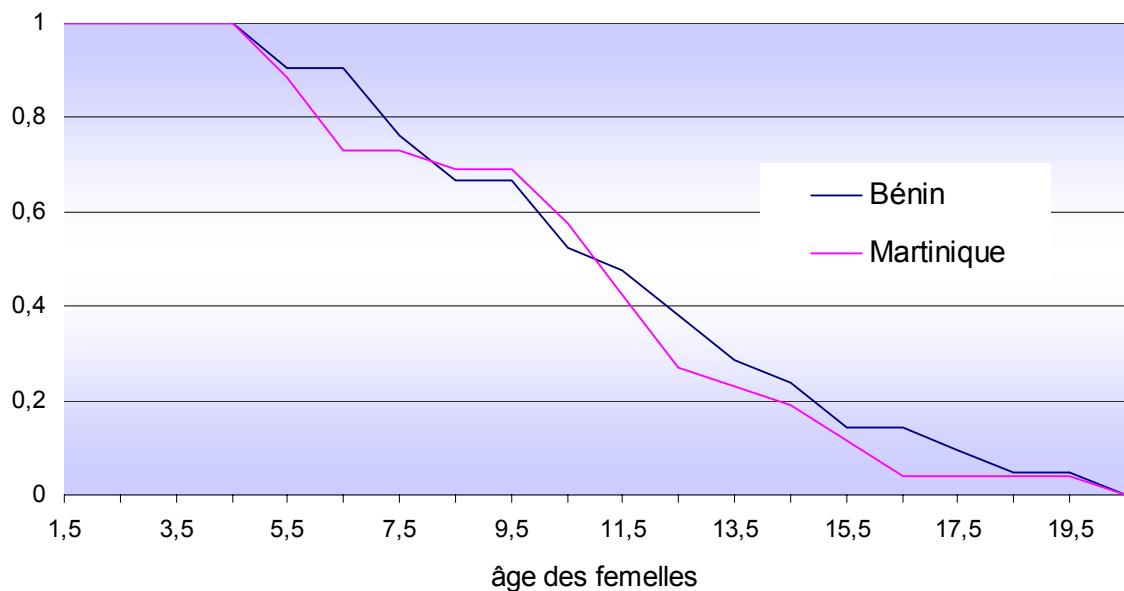
Le Tableau 3 montre les paramètres démographiques estimés pour les deux populations. Le taux de production de femelles ou taux net de reproduction R_o est significativement inférieur au taux de production de mâles R_{op} , pour les femelles du Bénin ainsi que pour celles de Martinique (Bénin : *t-student* = 70,48; $dl = 28,66$; $p < 0,001$; Martinique : *t-student* = 82,53; $dl = 42,21$; $p < 0,001$).

Figure 2. Proportion de mâles dans la descendance de cohortes de *C. plutellae* d'origines géographiques différentes.



Martinique♂♀ et Bénin♂♀ représentent le sexe-ratio moyen produit par des femelles de Martinique et du Bénin respectivement productrices de mâles et des femelles.

Figure 3. Courbes de survie adulte de deux cohortes de *C. plutellae* d'origines géographiques différentes.



L'âge moyen de production de femelles est aussi inférieur à celui de production de mâles, pour les deux populations. Les femelles concentrent leur effort reproductif pour produire des femelles dans les premiers jours de leur vie tandis que la production de mâles est plus tardive (Bénin : $t\text{-student} = 45,57$; $dl = 36,17$; NS ; Martinique : $t\text{-student} = 53,72$; $dl = 41,04$; NS).

Les tests $t\text{-student}$ de comparaison des paramètres entre les deux populations sont présentés sur le Tableau 3. Le taux de production de femelles ou taux net de reproduction R_o des femelles du Bénin est plus important que celui des femelles de Martinique. Les mêmes résultats ont été observés pour la production de mâles (R_{op}) et d'adultes (R_{oa}). Les femelles du Bénin produisent significativement plus de mâles et plus d'adultes. L'âge reproductif des femelles du Bénin est supérieur à celui des femelles de Martinique, cela pour la production de femelles, ainsi que pour la production de mâles et d'adultes.

Des différences au sein des populations ont été observées, entre les femelles Bénin♂♀ et Bénin♂- ainsi qu'entre les femelles Martinique♂♀ et Martinique♂- pour les différents paramètres démographiques (Tableau 4). Les mères productrices de mâles et de femelles (i.e. Bénin♂♀ et Martinique♂♀) produisent un nombre moins important de descendants que celle qui ne produisent que des mâles (i.e. Bénin♂- et Martinique♂-) (tests non montrés). Conjointement, l'âge reproductif des femelles Bénin♂♀ et Martinique♂♀ est inférieur à l'âge reproductif des femelles Bénin♂- et Martinique♂- (tests non montrés).

3.3. Expérience 3 : Effet du superparasitisme sur le sexe-ratio

Le sexe-ratio obtenu en condition de monoparasitisme a été de $0,59 \pm 0,52$. Elle n'est pas significativement différente du sexe-ratio de $0,66 \pm 0,05$, obtenu en conditions de superparasitisme non contrôlées (au premier jour de l'expérience 2) (*glm Binomial* : $\chi^2 = 2,04$; $dl = 1$; NS). Aucun patron de distribution temporaire des pontes de mâles et de femelles n'a été déterminé au cours de l'expérience : les pontes mâle et femelle n'ont pas montré un ordre particulier.

Tableau 3. Paramètres de productivité de deux cohortes de *C. plutellae* originaires du Bénin et de Martinique estimés à partir de tables de vie et fertilité.

Paramètre	Benin	Martinique	Comparaison		
			t-student	dl	p
Taux net de production de femelles (R_o)	$44,43 \pm 0,37$	$25,5 \pm 0,24$	43,97	35,66	< 0,001
Taux net de production de mâles (R_{op})	$103,34 \pm 0,77$	$59,08 \pm 0,34$	53,72	27,63	< 0,001
Taux net de production d'adultes (R_{oa})	$147,76 \pm 0,75$	$84,58 \pm 0,26$	81,82	24,82	< 0,001
Age producteur de femelles (A_m) (jours)	$4,57 \pm 0,02$	$4,41 \pm 0,01$	6,50	29,13	< 0,001
Age producteur de mâles (A_p) (jours)	$5,80 \pm 0,02$	$5,51 \pm 0,02$	12,12	45,00	< 0,001
Age producteur d'adultes (A_a) (jours)	$5,43 \pm 0,01$	$5,18 \pm 0,01$	12,58	44,42	< 0,001

Tableau 4. Paramètres démographiques de femelles de *C. plutellae* originaires du Bénin et de Martinique en fonction de leur type de descendance.

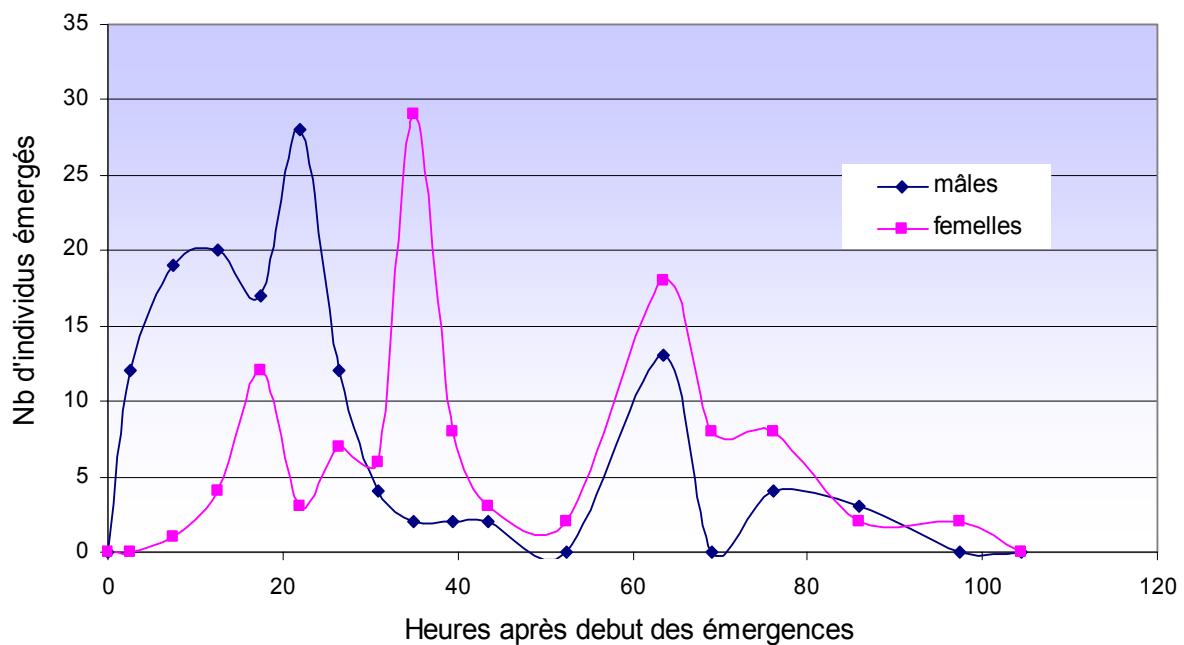
Paramètre	Benin		Martinique	
	Productrices de mâles (Bénin♂-)	Productrices de mâles et femelles (Bénin♂♀)	Productrices de mâles (Martinique♂-)	Productrices de mâles et femelles (Martinique♂♀)
	n = 3	n = 18	n = 12	n = 14
Taux de production de femelles (R_O)	0	51,83 ± 0,38	0	44,2 ± 0,39
Taux de production de mâles	234,67 ± 4,30	81,45 ± 0,55	95,42 ± 0,63	30,07 ± 0,16
Taux de production d'adultes	234,67 ± 4,30	133,28 ± 0,75	95,42 ± 0,63	74,27 ± 0,37
Age productrice de femelles (Am) (jours)	--	4,57 ± 0,02	--	4,41 ± 0,01
Age productrice de mâles (Ap) (jours)	6,58 ± 0,06	5,42 ± 0,02	5,82 ± 0,032	4,55 ± 0,02
Age productrice d'adultes (Aa) (jours)	6,58 ± 0,06	5,09 ± 0,02	5,82 ± 0,032	4,47 ± 0,02

3.4. Expérience 4 : Patron d'émergence mâle et femelle : l'évolution du sexe-ratio au cours du temps

L'émergence de 226 adultes, dont 144 mâles et 122 femelles de *C. plutellae* a été enregistrée. Elle s'est étalée sur une période de 105 heures. La Figure 4 montre le nombre et le sexe des individus émergés. Trois étapes différentes peuvent être distinguées au cours de ces 105 heures. Une première étape, durant les 30 premières heures, après le début

d'émergence, correspond au pic d'émergence mâle. Pendant cette étape, le sexe-ratio est en moyenne de $0,76 \pm 0,08$, *i.e.* les mâles sont toujours plus nombreux que les femelles ($t\text{-student} = 2,82; dl = 9,80; p < 0,05$). 77, 78 % des mâles et 27,05 % des femelles émergent durant cette étape. Au cours de cette étape, le sexe-ratio diminue avec le temps (*glm Binomial pente de régression* = -0,10; $dl = 1; p < 0,001$). La deuxième étape correspond au pic d'émergence femelle entre 30 h et 40 h après le début d'émergence. 6,94 % des mâles et 37,70 % des femelles émergent durant cette période. Le sexe-ratio pendant cette période est en moyenne de $0,27 \pm 0,08$. La troisième étape, après 40 h correspond à une queue de distribution d'émergence des mâles (15,27 %) et des femelles (29,86 %). Pendant cette période le sexe-ratio biaisé en faveur des femelles, en moyenne de $0,25 \pm 0,09$, ne varie pas en fonction du temps (*glm Binomial*, $\chi^2 = 12,30; dl = 1; NS$).

Figure 4. Emergence de mâles et de femelles de *Cotesia plutellae* pondus dans un intervalle de 6 heures



4. Discussion

Les deux populations de *C. plutellae* originaires du Bénin et de Martinique ont montré des différences dans le déterminisme du sexe-ratio. De façon commune, cependant, les deux populations ont produit des sexe-ratios généralement biaisés en faveur des mâles. Ce phénomène est rare chez les parasitoïdes haplodiploïdes pour lesquels les sexe-ratios sont généralement biaisés en faveur des femelles.

Le principal objectif de ce chapitre était d'étudier la réponse du sexe-ratio en fonction de la densité de mères présentes sur une placette, ceci afin de tester des prédictions théoriques concernant la LMC. Dans le Chapitre III, la densité des mères avait été considérée pour son effet sur l'activité parasitaire. L'activité parasitaire avait été estimée indirectement par la mortalité induite sur l'hôte. Nous avions mis en évidence dans le Chapitre III, des réponses différentes pour les deux populations. L'activité parasitaire des femelles de la population de Martinique était moins perturbée par la présence de congénères, alors que celle du Bénin l'était davantage : l'interférence était plus importante entre les femelles du Bénin qu'entre celles de Martinique. Dans le présent chapitre, nous avons évalué l'effet des variations de la densité des mères sur la production d'adultes, de mâles et de femelles et le sexe-ratio de la descendance. Nous retrouvons ici une même tendance que dans le Chapitre III. Pour les groupes de mères issues de la population de Martinique, la production de mâles augmente avec la densité des mères. Pour les groupes de mères issues du Bénin, la production de mâles n'est pas augmentée au total. Notons que pour les deux types de groupes, la production de femelles est constante, et ne dépend pas du nombre de mères présentes sur la placette. Les raisons de cette constance sont bien différentes entre les deux populations: la limitation du nombre de filles pour la population du Bénin se fait à cause de l'interférence entre les mères, pour la population de Martinique, elle se fait en réponse à la LMC. Des conséquences sur le sexe-ratio sont évidentes : au Bénin, il est constant et en Martinique, il augmente avec la densité de mères.

Causes de la différentiation entre les populations du Bénin et de Martinique dans leur réponse à la densité de femelles fondatrices

Les femelles de la population de Martinique sont capables de répondre en termes de sexe-ratio aux variations de densité de femelles. Cela en accord avec les prédictions de la LMC "stricte", le modèle de Hamilton s'ajustant le mieux aux données. La population du Bénin

n'ajuste pas le sexe-ratio en fonction des variations de densité de femelles en accord avec les prédictions du modèle de Fisher. Plusieurs hypothèses peuvent être proposées pour expliquer l'évolution de telles différences entre les populations:

1) La compétition entre mâles ou entre femelles au sein des populations.

D'après la théorie, la compétition asymétrique entre sœurs et entre frères entraîne la sélection des sexe-ratios biaisés en faveur du sexe le moins concurrencé (Frank 1986). Sous conditions de LMC, la compétition entre frères pour accéder aux accouplements est plus forte que celle entre sœurs pour accéder aux sites de ponte. Des sexe-ratios biaisés en faveur des femelles sont donc favorisées. Il est possible que les deux populations de *C. plutellae* soient soumises à des conditions de compétition intraspécifique différentes. Pour la population de Martinique les frères expérimenteraient plus de concurrence pour l'accès aux femelles que les sœurs pour l'accès aux sites de ponte. Au Bénin, en revanche, la compétition serait plus symétrique. Deux hypothèses non exclusives peuvent être envisagées : (a) il existe au Bénin une compétition réduite entre frères pour l'accès aux femelles, (b) il existe au Bénin une compétition accrue entre sœurs pour l'accès aux sites de ponte.

a) *Compétition réduite entre mâles pour accéder aux femelles*

Nos résultats suggèrent que ces deux populations présentent des structures spatiales d'accouplement différentes, ce qui entraînerait des effets sur la compétition intraspécifique, premièrement, entre les mâles. Le paramètre p (i.e. la probabilité d'accouplement sur la placette d'émergence) estimé pour la population de Martinique suggère que les données correspondent à une structure d'accouplements se réalisant majoritairement sur la placette d'émergence. Pour la population du Bénin, l'absence de réponse à la LMC suggère que les accouplements se réalisent en panmixie. La compétition entre mâles apparentés, à l'origine de la LMC, serait moins importante au Bénin qu'en Martinique.

b) *Compétition accrue entre femelles pour accéder aux sites de ponte*

Concernant la deuxième hypothèse sur la compétition accrue entre filles pour expliquer l'absence de réponse à la LMC chez les femelles du Bénin, nos résultats ont montré que ces femelles présentent des caractéristiques particulières. Elles sont

significativement plus grandes (Chapitre I) et plus fertiles (Chapitre présent) que celles de Martinique. Cela pourrait suggérer qu'elles ont de meilleures capacités compétitives. En outre, dans les conditions de terrain, les femelles du Bénin sont soumises à de hautes densités de femelles parasitant sur une même placette et sont plus souvent en conditions de compétition.

2) Deux structures génétiques différentes ?

Nos résultats suggèrent que les deux populations présentent des régimes d'accouplement différents susceptibles d'affecter sur leurs structures génétiques. La population du Bénin pourrait présenter une consanguinité moins importante que celle de Martinique. Cela serait renforcé par le fait qu'au Bénin, les densités de femelles parasitant sur les placettes sont souvent très importantes, ce qui limiterait l'accouplement entre individus apparentés. Des études sur la structure génétique des populations à l'aide des marqueurs codominants se révéleraient très utiles. La proportion d'individus hétérozygotes en Martinique devrait, d'après nos hypothèses, présenter des déficits par rapport à la population du Bénin.

3) Dispersion des mâles

Les mâles auraient développé de meilleures capacités de dispersion au Bénin qu'en Martinique. Les études de West & Herre (1998) ont montré que la capacité de dispersion des mâles a des effets significatifs sur le déterminisme du sexe-ratio. Ces auteurs ont montré que la capacité de dispersion des mâles diminue le biais du sexe-ratio (i.e. augmente la proportion de mâles) pour des parasitoïdes expérimentant de la LMC. La taille des insectes a été souvent corrélée à leur capacité de vol, à la distance qu'ils peuvent parcourir et à leur vitesse de dispersion. Nos études sur la différenciation morphométrique ont mis en évidence que les mâles du Bénin sont significativement plus grands que ceux de Martinique (voir Chapitre I). Hardy & Mayhew (1998) ont montré que la taille relative du thorax (segment associé à la locomotion) des mâles était corrélée positivement au sexe-ratio, cela pour 19 espèces de parasitoïdes de la famille Bethylidae. Des mesures de la taille relative du thorax des mâles, et dans la mesure du possible de leur capacité de vol s'avèreraient informatives.

La protandrie observée chez les adultes du Bénin peut renforcer cette hypothèse. Même si le temps de développement des mâles est significativement inférieur à celui des

femelles et une grande partie des mâles (77,78 %) émerge avant le pic d'émergence femelle, l'émergence des mâles s'étale dans le temps et couvre la totalité des émergences femelle. Il est possible que dans ces conditions, le comportement de dispersion soit plus avantageux pour les mâles que dans des conditions de protandrie "stricte". Malheureusement, l'évaluation du temps de développement pour les adultes de Martinique n'a pas pu être réalisée. Le résultat attendu selon nos hypothèses serait un patron d'émergence différent chez ces adultes.

Causes des excès de mâles par rapport aux prédictions de la LMC

Les sexe-ratios des deux populations montrent des excès de mâles par rapport à ceux prédis par le modèle de Fisher (pour Bénin) et de Hamilton (pour Martinique), et ceci de façon indépendante de la densité, donc en désaccord avec l'optimum évolutif. Cet excès de mâles semble être produit par une proportion de femelles contraintes à ne produire que des mâles. Notons que les femelles pourraient être plus contraintes au laboratoire, ce qui expliquerait l'écart du sexe-ratio par rapport à l'optimum évolutif. La proportion de femelles contraintes a été estimée par modélisation à 11 % pour le Bénin et à 35 % pour la Martinique. Ces estimations correspondent avec les résultats des tables de vie et fertilité qui montrent que 14,29 % des femelles du Bénin et 46,15 % des femelles de Martinique ne produisent pas de femelles. Ces femelles présentent la particularité de produire un nombre significativement plus important de descendants et d'avoir des âges reproductifs plus tardifs, donc plus étendus dans le temps, que les femelles productrices de mâles et de femelles. Leur effet sur le sexe-ratio est particulièrement considérable pour la population de Martinique. L'étude de Debout et al. (2002) a montré que chez le parasitoïde *Leptopilina heterotoma* 13,33 % des femelles n'ont produit que des mâles, en conditions de laboratoire. Les auteurs attribuent cette situation à des échecs lors de l'accouplement. Nous considérons plusieurs hypothèses à l'origine de ces résultats. Il convient de distinguer dans la liste suivante les causes dues à des artefacts de laboratoire, hypothèses a) et b) et c), de celles dues à d'autres facteurs génétiques ou physiologiques non pris en compte par notre étude, hypothèses c); d) et e) :

a) Fraction des femelles non fertilisées

Il est possible qu'une fraction de femelles n'ait pas été fertilisée. Cela pourrait être dû aux conditions expérimentales qui ne favoriseraient pas l'accouplement des individus. Or, des essais complémentaires ont montré des taux d'accouplement de 100 % (n= 30) pour la population du Bénin. Pour la population de Martinique ces essais

n'ont pas pu être réalisés. Il est encore possible que pour la population de Martinique, l'accouplement ne soit pas systématique et nécessite pour s'effectuer dans de bonnes conditions la réalisation d'un protocole particulier qui reste à définir. Jacob & Evans (2000) affirment que l'accouplement réduit la longévité des femelles. Cela pourrait expliquer que dans notre étude les femelles productrices de mâles uniquement auraient des longévités plus importantes, car non accouplées. Cependant, Mitsunaga et al. (2004) ont montré que l'activité d'accouplement ne réduit pas la longévité des femelles de *C. plutellae*. Nous suggérons que la réduction de la longévité et aussi de la fertilité sont associées aux coûts de la production de femelles et non pas de l'accouplement.

b) Facteurs environnementaux

Des facteurs non pris en compte par notre expérimentation, tels que des facteurs climatiques, facteurs liés à la plante hôte, etc., qui conduisent une partie des femelles à pondre plus de mâles qu'attendu sous les modèles.

c) *Wolbachia*

Il est possible que la prévalence partielle de *Wolbachia*, estimée à 86,7 % des individus issus de la population de Martinique (Chapitre I), entraîne des accouplements intra-populationnels incompatibles. Cependant, avec des taux d'infection de cet ordre, l'on peut s'attendre à environ 20% d'accouplements entre femelles saines et mâles infectés, donc incompatibles. Environ 20% de femelles seraient contraintes à produire des mâles du fait de *Wolbachia*. Néanmoins, le taux de femelles ne produisant que des mâles est de 46,15% dans notre étude. La bactérie ne semble donc pas tout expliquer.

d) Mortalité larvaire différentielle

L'excès de mâles pourrait être dû à des taux de mortalité larvaire plus importantes pour les femelles que pour les mâles. Cette mortalité accrue des femelles serait particulièrement visible en condition de superparasitisme, du fait de la qualité plus médiocre de l'hôte. Or, il n'a pas été observé de différence de sexe-ratio entre conditions de mono- et superparasitisme. De plus, la théorie prédit que la rencontre des hôtes de basse qualité conduit à la ponte préférentielle de mâles. Sous conditions de superparasitisme, les femelles pondraient un nombre plus important de mâles que sans superparasitisme (e.g. Van Baaren et al. 1999). S'il existait alors une mortalité

accrue en condition de plus forte compétition, ce serait celle des mâles. Cette hypothèse ne semble donc pas plausible.

e) Facteurs d'isolement génétique

Une fraction des accouplements intra-populations serait non fertile du fait de contraintes génétiques de type physique ou physiologique (i.e. les populations, particulièrement celle de Martinique, seraient constituées de mélanges de populations incompatibles entre elles). Cependant les travaux de génétique du Chapitre II n'ont pas montré une telle diversité intra-population.

Désaccord avec les modèles en ce qui concerne l'évolution du sexe-ratio au cours de l'exploitation d'une placette et au cours de la vie de la femelle

Nos résultats montrent que le sexe-ratio augmente avec l'âge des femelles de deux populations et que, à une échelle temporaire plus fine, i.e. lors de l'exploitation d'une placette, il ne semble pas y avoir de patron de ponte (ordre dans la ponte des mâles et des femelles). Ces résultats semblent contredire les prédictions de Wakano (2005) sur la *programmation* des sexe-ratios sous conditions de LMC. Cet auteur a montré par modélisation que les femelles maximisent leur fitness lorsqu'initialement elles produisent seulement des mâles, ensuite elles augmentent graduellement la production de femelles jusqu'à atteindre une valeur d'équilibre et ultérieurement elles changent abruptement et ne produisent que des femelles. Notons que les femelles des deux populations n'ont pas eu de possibilité d'accouplement que durant 24 h en début de leur vie adulte, et l'augmentation du sexe-ratio peut être le résultat de l'épuisement progressif de spermatozoïdes. Cependant nos résultats montrent aussi que la tendance à l'augmentation du sexe-ratio commence dès le début de la vie des femelles et qu'elle est uniforme au cours de leur vie (*glm Binomial : sexe-ratio~âge* sur des subsets accumulées, pentes de régression similaires, non montrées).

Variation du comportement au sein d'une même espèce

L'étude du déterminisme du sexe-ratio est intéressante du point de vue évolutif car le sexe-ratio a un effet direct sur la valeur sélective des femelles (même si moins direct que d'autres traits), mais surtout parce que les modèles théoriques sont simples et particulièrement pertinents pour expliquer les données de laboratoire ainsi que de terrain. Les dispositifs expérimentaux sont souvent faciles à mettre en place et les variables, faciles à mesurer (West et al. 2000). Les travaux sur le sexe-ratio rapportent actuellement des évidences quantitatives

des phénomènes de sélection naturelle au niveau individuel, entre apparentés et au niveau populationnel (Chapuisat & Keller 1999, West et al. 2000, Reece et al. 2004). Cependant, de nombreux groupes montrent des écarts aux modèles théoriques. West & Sheldon (2002) montrent le manque de patrons phylogénétique pour expliquer ces variations du déterminisme des sexe-ratios au sein des groupes taxonomiques. D'après ces auteurs espèces, et populations montrent des variations importantes quantitatives et qualitatives dans l'ajustement leurs sexe-ratios et il n'existe pas de cadre théorique général pour expliquer de telles différences. Notre travail souligne cette problématique, en essayant d'intégrer plusieurs facteurs confondants. Comment ces comportements différenciés ont pu évoluer chez *C. plutellae*, dans ces deux localités ?

(1) Différenciation adaptative

Les systèmes de culture du chou, différents entre le Bénin et la Martinique, ont pu entraîner des conditions locales à l'origine de pressions de sélection différentes pour le déterminisme du sexe-ratio. (i) Différence de stabilité de la ressource dans le temps. Au Bénin la culture se développe durant toute l'année. Les plantes ainsi que l'insecte hôte *Plutella xylostella* sont toujours disponibles (Pichon 2004). En Martinique la culture se réalise une fois par an. L'insecte hôte *Plutella xylostella* et donc le parasitoïde se développent en dehors des périodes de culture sur des plantes hôtes alternatives, des Brassicacées adventices et sauvages qui représentent des hôtes de moindre qualité (Pichon 2004). (ii) Différence de densité. Les densités d'hôte et de parasitoïde sur les plantes cultivées sont plus importantes au Bénin qu'en Martinique. (iii) La prévalence partielle de *Wolbachia* chez les parasitoïdes de Martinique. Ces conditions locales différencieront peuvent avoir des conséquences sur :

- La fréquence de rencontres des placettes d'hôtes à faible densité de parasitoïdes. Il est possible que la capacité des femelles à ajuster le sexe-ratio en fonction de la densité de fondatrices n'ait pas pu évoluer au Bénin, du fait des densités fortes et stables de parasitoïdes. Un environnement où les placettes à faible densité de congénères sont rares induit des pressions de sélection elles mêmes faibles pour ajuster le sexe-ratio (Herre, 1987).
- La taille des placettes de l'hôte. Les placettes pourraient être de plus grande taille et regrouper un nombre plus élevé d'hôtes au Bénin qu'en Martinique ce qui empêcherait l'évolution de structures d'accouplement au Bénin et la

favoriserait en Martinique. Lorsque les placettes sont de petite taille, la probabilité d'accouplement entre apparentés est plus importante et la pression de sélection, plus intense (Waage 1986). Waage 1986 a montré pour 31 espèces de parasitoïdes d'œufs de la famille Scelionidae que lorsque la taille des placettes de l'hôte augmentait, le sexe-ratio était plus important. L'évolution de la capacité des femelles à répondre à la densité de fondatrices est donc moins probable lorsque les placettes de l'hôte sont de grande taille.

- La prévalence partielle de l'infection par *Wolbachia* chez les parasitoïdes de Martinique. Il existerait, à la Martinique, une proportion considérable et variable de femelles contraintes à ne produire que des mâles (femelles saines accouplées avec des mâles infectés). Celles-ci biaissent fortement le sexe-ratio en faveur des mâles, comme nos résultats l'ont montré. Cette situation peut favoriser la sélection de femelles non contraintes qui produisent davantage des femelles (Godfray 1994 ; Fauvergue et al. 1998). Les effets sur l'évolution de la LMC ne sont pas évidents. Du fait de cet excès de mâles chez les femelles contraintes par *Wolbachia*, les sexe-ratios produits par les femelles non contraintes devraient compenser et se maintenir à une valeur inférieure à 0,5 lorsque la densité de fondatrices augmente. Cela même en absence de structure d'accouplement. Nous n'observons pas cet effet de compensation dans notre étude car des sexe-ratios significativement supérieurs à 0,5 sont observés pour des densités importantes de femelles fondatrices. Une interprétation possible est que la compensation n'est pas observée car elle n'a pas été sélectionnée dans la nature car les femelles y sont moins contraintes qu'en laboratoire.

(2) Maintien de la différenciation grâce au compromis bénéfice : coût

West & Sheldon (2002) proposent un cadre théorique général pour étudier la variation dans l'ajustement des sexe-ratios entre groupes taxonomiques et entre populations sur la base des bénéfices et coûts qui entraîne ce trait. En accord avec notre deuxième hypothèse, l'ajustement des sexe-ratios se maintiendrait à la Martinique grâce à ses coûts plus bas et/ou ses bénéfices plus importants qu'au Bénin. Produire et entretenir une "machinerie" pour évaluer les conditions de compétition au sein des placettes i.e. évaluer la densité de compétitrices présentes sur la placette et aussi de compétitrices qui pourraient arriver ultérieurement, pourrait entraîner des

coûts considérables. Les bénéfices seraient plus importants lorsque la probabilité de rencontre de placettes non exploités est plus importante. Les femelles de Martinique ayant une plus grande probabilité d'exploiter seules une placette auraient investi plus dans cette "machinerie" que sur la fécondité, par exemple.

5. Conclusion

Nous avons mis en évidence des variations du comportement de déterminisme du sexe-ratio au sein de deux populations. Seulement une des deux populations ajuste le sexe-ratio à la densité de femelles parasitant sur une même placette. La fertilité des femelles diffère entre populations, ainsi que la proportion de femelles contraintes à pondre des mâles. Ce travail montre les effets de quelques facteurs qui jouent sur le déterminisme du sexe-ratio tant niveau individuel que populationnel. Il met en évidence deux stratégies différentes qui pourtant aboutissent à des sexe-ratios populationnels similaires. Ces résultats justifient l'étude de l'effet de cette différenciation sur l'efficacité des populations pour contrôler leur population hôte (lors des opérations de lutte biologique). Meunier & Bernstein (2001) ont montré que la LMC peut contribuer à la stabilisation des systèmes hôte-parasitoïde. Néanmoins le rôle stabilisant reste à tester sur le terrain.

Confronter les hypothèses proposées par notre travail à des données du terrain sur les situations écologiques des deux localités s'avère la suite de ce travail. Ces données devraient concerner principalement la distribution spatiale et temporaire de l'hôte et du parasitoïde, et ses relations avec le sexe-ratio observé sur le terrain. Notons que les données de suivi de dynamique des populations existent pour ces deux localités du Bénin et de la Martinique. Leur publication renforcerait l'intérêt de ce travail.

Des études théoriques de modélisation de l'effet de l'infection par *Wolbachia* ainsi que des variations des coûts et bénéfices sur l'évolution de la LMC seraient aussi des continuations de ce travail.

Chapitre V

Variation géographique du comportement de superparasitisme chez le parasitoïde *Cotesia plutellae*

Chapitre V

Variation géographique du comportement de superparasitisme chez le parasitoïde *Cotesia plutellae*

1. Introduction

Les femelles parasitoïdes répartissent leurs œufs sur les hôtes qui sont généralement distribués en placettes. Plusieurs décisions doivent être prises par les femelle lors de l'exploration des placettes : le temps qu'elles y résideront, le temps alloué à l'examen de l'hôte, le pourcentage d'hôtes rencontrés qu'elles parasiteront, le nombre d'œufs qu'elles déposeront par hôte parasité, le sexe ratio des œufs déposés, entre autres. Ces décisions affecteront la distribution des œufs et, en conséquence, la compétition entre individus qui émergeront. Plus encore que pour les prédateurs, la disponibilité de ressources des parasitoïdes est fixée par les décisions de la mère. L'ensemble de ces décisions comportementales interdépendantes détermine en grande partie le succès reproductif des femelles. Ce lien direct et quantifiable entre le comportement et la valeur sélective fait des parasitoïdes des modèles intéressants pour l'étude de l'adaptation comportementale (van Alphen & Visser 1990).

En présence d'une variabilité génétique pour le comportement et de barrières aux flux de gènes entre populations, le comportement peut évoluer et diverger entre populations. Cette différentiation de comportements fortement liés à la valeur sélective peut présenter un caractère adaptatif. Un comportement déterminé étant avantageux et donc sélectionné dans un habitat particulier peut être désavantageux et contresélectionné dans un autre. Cependant, la dérive génétique peut elle aussi entraîner la différenciation géographique du comportement des femelles parasitoïdes.

La question de la différenciation du comportement entre populations s'avère importante pour la lutte biologique. Des populations qui ont évolué pour se comporter différemment pourraient avoir des impacts différents sur leur population hôte. Dans le cas du contrôle naturel, les populations locales peuvent ne pas être efficaces pour contrôler la population hôte, le résultat évolutif peut éventuellement ne pas être optimal du point de vue du contrôle (voir Chapitre III).

A la différence des proies des prédateurs, les hôtes parasités par les parasitoïdes restent

dans le milieu et sont donc exposés à de nouvelles attaques. La ponte d'un œuf dans un hôte déjà parasité par une femelle conspécifique, ou par la même femelle, conduit à une situation de superparasitisme (self-superparasitisme pour le deuxième cas). Pendant longtemps ce comportement a été considéré comme la conséquence de l'incapacité des femelles à discriminer les hôtes sains des hôtes parasités. Pourtant, cette capacité a évolué chez de nombreuses espèces de parasitoïdes, appartenant aux principales familles d'hyménoptères. Même si cette capacité est fréquemment décrite dans la littérature, elle ne conduit pas toujours à l'évitement du superparasitisme. Qu'il s'agisse d'une incapacité discriminatoire ou d'une réponse adaptative, le superparasitisme est un comportement commun dans la nature et au laboratoire (revu par van Alphen & Visser 1990). Le choix de superparasiter a des conséquences sur la valeur sélective car il présente un coût en termes d'œufs et augmente la compétition entre individus à l'intérieur de l'hôte. Chez les parasitoïdes solitaires la compétition est d'autant plus forte qu'un seul individu peut survivre à la compétition. Plusieurs stratégies ont été développées par les parasitoïdes pour l'élimination des compétiteurs : le combat physique, souvent constaté entre des larves jeunes qui possèdent des mandibules très développées (Marris & Casperd 1996), l'ovicide-larvicide par la femelle qui superparasite (Godfray 1994, Yamada & Miyamoto 1998, Goubault et al. 2003), la suppression physiologique qui intervient lorsque la présence d'une larve de parasitoïde dans l'hôte la rend impropre au développement d'une autre (Fisher 1961).

Des modèles théoriques développés à partir des années 90 ont montré que le comportement de superparasitisme pouvait augmenter la probabilité de produire des descendants, lorsque le rapport entre les bénéfices et les coûts que l'oviposition entraîne est positif (van Alphen & Visser 1990, Godfray 1994). Ces travaux et d'autres développés ultérieurement ont montré que dans certains cas le superparasitisme peut être adaptatif ; lorsque la probabilité de trouver un hôte sain est faible (Weisser & Houston 1993), lorsque le nombre de compétiteurs est important (Visser et al. 1992a et b), ou quand la femelle n'est pas limitée par sa charge d'œufs (Sirot et al. 1997) et que la probabilité de survivre de l'œuf surnuméraire est non-nulle. Par exemple, Sirot (1996) a montré que si l'âge du premier œuf est inférieur à deux jours, le deuxième œuf pondu a une probabilité non-nulle de survivre. Si le délai de deux jours est dépassé le premier œuf aura eu le temps d'éclore et la première larve éliminera le second œuf. Le comportement de self-superparasitisme peut également être adaptatif lorsque la ponte dans un œuf parasité par la même femelle augmente la prise de nourriture par l'hôte et bénéficie ainsi au parasitoïde survivant (Mackauer & Chau 2001). Le

self-superparasitisme peut aussi augmenter la probabilité de contourner les défenses immunitaires de l'hôte (Kitano & Nakatsuji 1978). Ce comportement peut enfin augmenter la probabilité de vaincre lors de la compétition avec des conspécifiques, d'échapper à l'hyperparasitisme et au multiparasitisme (Mackauer & Chau 2001).

Un des compromis les plus importants d'un point de vue évolutif, car il détermine en grande partie le rapport coût-bénéfice d'une ponte, est le rapport entre la charge d'œufs et le temps disponible pour la femelle (Rosenheim 1999). Les parasitoïdes synovogéniques (capables de produire de nouveaux œufs au cours de leur vie) peuvent expérimenter des périodes courtes d'épuisement d'œufs, mais leur limitation d'œufs est généralement rare (Lane et al. 1999). A l'inverse, les parasitoïdes pro-ovogéniques naissent avec un stock d'œufs matures fixe (Godfray 1994). Il est possible que ces parasitoïdes soient plus sélectifs vis-à-vis de leurs hôtes pour le choix du superparasitisme (Heimpel et al. 1996, Sirot & Krivan 1997, Heimpel & Rosenheim 1998, van Baalen 2000).

Dans le Chapitre III nous avons observé des différences entre populations de *Cotesia plutellae* dans la plasticité phénotypique de l'activité parasitaire des femelles en fonction de la densité d'hôtes disponibles. Nous avons estimé l'activité parasitaire indirectement, *via* la mortalité induite par le parasitoïde sur la population hôte (corrigée par la mortalité naturelle). Nous avons mis en évidence que les femelles de Martinique répondaient moins efficacement aux incréments de densité hôte que les femelles originaires du Bénin. Leur réponses fonctionnelles étaient différentes et semblaient adaptées aux conditions locales (voir Chapitre III). Néanmoins le nombre d'hôtes parasités n'était significativement différent entre les deux populations que pour la densité de 120 hôtes. Dans le présent chapitre, l'activité parasitaire des femelles est estimée directement par dissection des larves exposées. L'objectif est de comparer (1) le nombre et la dispersion des œufs dans les larves hôtes chez des femelles de *C. plutellae* de différentes origines géographiques, et (2) la plasticité de ce patron vis à vis des variations de facteurs environnementaux conduisant à l'épuisement des placettes, tels que la densité hôte et le temps d'exposition. Nous chercherons à déterminer si ces traits du comportement permettent de caractériser les populations.

2. Matériels et méthodes

Dans un premier temps, les distributions des pontes des femelles au sein des larves hôtes seront étudiées en fonction de la densité hôte pour deux populations (Bénin et

Martinique) et en fonction du temps d'exposition pour trois populations (Bénin, Afrique du Sud et Taïwan).

2.1. Matériel biologique

Des larves de *Plutella xylostella* ont été récoltées au Bénin (aire de Cotonou), à Taïwan (aux alentours de Shahua), en Afrique du Sud (Brits, Province de Gauteng) et en Martinique (Lamentin). Les parasitoïdes émergeant des larves parasitées ont été utilisés pour fonder des élevages au laboratoire. Les populations du Bénin et de Martinique ont été élevées pendant 6 à 8 générations avant les expériences. Les populations de Taïwan et d'Afrique du Sud ont été élevées pendant 20 générations (environ un an) à l'ICIPE (Nairobi, Kenya) avant d'être envoyées en France. Une population de *P. xylostella* originaire du Bénin a été élevée et utilisée comme hôte pour l'ensemble des expériences. La procédure de récolte et élevage des insectes est détaillée dans Rincon et al. (2006). Toutes les expériences ont été réalisées dans des conditions contrôlées à 25°C, et une photopériode 16 : 8 (L : D). Du miel pur était à disposition des femelles.

2.2 Expérience n° 1 : Densité d'hôte et superparasitisme

Dans cette expérience nous avons étudié la distribution du nombre d'œufs déposés par larve en fonction de la densité larvaire. Des femelles de chaque population présentant des conditions physiologiques "standard": âgées de 24 à 48 h et qui avaient été en présence de mâles durant 24 heures, ont été isolées dans des boîtes en plastique de 8 cm de diamètre. Chacune des ces femelles ont été mises en présence de groupes de 10, 20, 40, 80 ou 120 larves L3 non parasitées de l'hôte *P. xylostella* pendant 24 heures dans des boîtes en plastique de (30 × 27 × 10 cm), avec six répétitions par traitement et par population. Grâce à ce dispositif, nous avions l'assurance que les femelles rencontraient des larves parasitées au cours de l'expérience. Après exposition, les hôtes ont été mis en développement durant 24 h, puis congelés à -21° C. Ultérieurement, 10 larves ont été disséquées par répétition, le nombre d'œufs déposés par larve a été compté. Les pourcentages de larves disséquées par expérience étaient donc respectivement de 100 %, 50%, 25%, 12,5% et 8,3% pour les densités d'hôtes de 10, 20, 40, 80, et 120. Les hôtes parasités n'ont pas été remplacés durant l'expérience, les femelles ont donc expérimenté différents degrés d'épuisement des placettes.

2.3. Expérience n° 2 : Temps d'exposition et superparasitisme

Dans cette deuxième expérience, le patron de distribution des œufs (i.e. des attaques) a été étudié en fonction du temps passé sur la placette et de la charge ovocytaire de la femelle, pour les souches issues d'Afrique du Sud, du Bénin et de Taïwan. De la même façon que pour l'expérience n° 1, des femelles âgées de 24 heures et qui avaient été en présence de mâles pendant 24 h, ont été isolées en présence de cinq larves L3 de l'hôte *P. xylostella*. Après un temps d'exposition de 2, 4 ou 6 heures, les femelles ont été retirées, anesthésiées et disséquées afin de déterminer le nombre d'œufs restant dans leurs ovaires. Les larves ont été conservées pendant 24 heures, congelés à -21°C et disséquées ultérieurement. Vingt répétitions ont été réalisées par population et par temps d'exposition. Comme lors de l'expérience précédente, les hôtes parasités n'ont pas été remplacés durant l'expérience, les femelles ont donc expérimenté différents degrés d'épuisement des placettes.

2.4. Procédure statistique

2.4.1. Analyses de l'activité de ponte

Trois variables ont été analysées pour l'activité de ponte : le nombre d'œufs déposés par larve, la proportion d'hôtes parasités et la proportion d'hôtes superparasités. Dans une première étape, le nombre d'œufs déposés par femelle a été analysé à l'aide de modèles linéaires (*lm*) avec l'origine de la population, la densité, le temps d'exposition des hôtes et/ou la charge d'œufs comme variables indépendantes. La charge d'œufs a été calculée par la somme des œufs pondus par la femelle plus ceux qui restaient dans ses ovaires après le parasitisme. Le coefficient de détermination R^2 ainsi que la pente de régression ont été utilisés pour interpréter les résultats. Les moyennes ont été comparées à l'aide de test *t-student*. Dans une seconde étape, les proportions d'hôtes parasités et superparasités ont été analysées à l'aide de modèles linéaires généralisés (*glm*) avec une variable dépendante binomiale et l'origine de la population, la densité, le temps d'exposition des hôtes et/ou la charge d'œufs comme variables indépendantes. Une fonction de lien *logit* a été utilisée. Les effets des différents facteurs ont été estimés par des tests de χ^2 sur la différence de déviance due au modèles.

2.4.2. Analyses de la dispersion des attaques

Le coefficient de dispersion des attaques (CDA) a été défini pour chacune des répétitions (i.e. femelles) comme le coefficient de surdispersion du nombre d'œufs déposés par larves par rapport au modèle poissonnien. Il s'agit d'un estimateur du rapport entre la

variance observée et la variance attendue selon le modèle aléatoire de poisson, qui augmente avec l'agrégation des attaques. Le CDA a été estimé à l'aide d'un modèle quasi-poissonnien qui présente la particularité, par rapport au modèle poissonnien, de ne pas fixer le coefficient de dispersion à 1. Ce modèle permet ainsi de modéliser les sous et/ou les sur dispersions et d'estimer le CDA. Des CDA significativement différents de 1 permettent de rejeter le modèle poissonnien ou de distribution (des attaques) au hasard. Un CDA inférieur à l'unité révèle une sous-dispersion des attaques et un CDA supérieur, une surdispersion des attaques par rapport au modèle de Poisson. Dans le premier cas, le superparasitisme est évité et dans le deuxième le superparasitisme est agrégé sur une fraction des hôtes tandis que l'autre fraction reste "protégée" des attaques (i.e. en condition de refuge).

Le CDA a été ainsi estimé pour chaque femelle/expérience. Des modèles linéaires (*lm*) avec le CDA comme variable dépendante et l'origine de la population, la densité et/ou le temps d'exposition des hôtes et/ou la charge d'œufs comme variables indépendantes ont permis de déterminer l'effet des variables dépendantes sur la distribution des attaques. Le CDA de l'ensemble des femelles de chaque population a été cumulé pour une analyse globale. La pertinence des groupes génétiques déterminés dans le Chapitre II (Rincon et al. 2006) a été testé à l'aide d'ANOVA intra et inter groupes génétiques.

3. Résultats

3.1. Expérience n° 1: Densité d'hôte et superparasitisme

3.1.1. Effet de la densité hôte sur l'activité de ponte

Dans les conditions de cette expérience, **toutes densités confondues**, les femelles issues de la population du Bénin ont pondu en moyenne 0,66 ($\pm 0,04$) œufs par larve hôte et celles de Martinique 0,60 ($\pm 0,05$) œufs par larve hôte. Les populations ne sont pas apparues significativement différentes ($t = 1,07$; $dl = 46,79$; NS). Le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles de Martinique diminuait avec la densité hôte (*lm* : *pente de régression* = -0,003; $R^2 = 0,20$; $p < 0,05$). Pour les femelles du Bénin, la densité hôte n'a pas eu d'effet sur le nombre d'œufs pondus (*lm* : *pente de régression* = -0,00; $R^2 = 0,03$; NS). Comme le montre la Figure 1, les différences entre populations sont significatives uniquement pour les densités de 10 et 80 hôtes (tests non montrés).

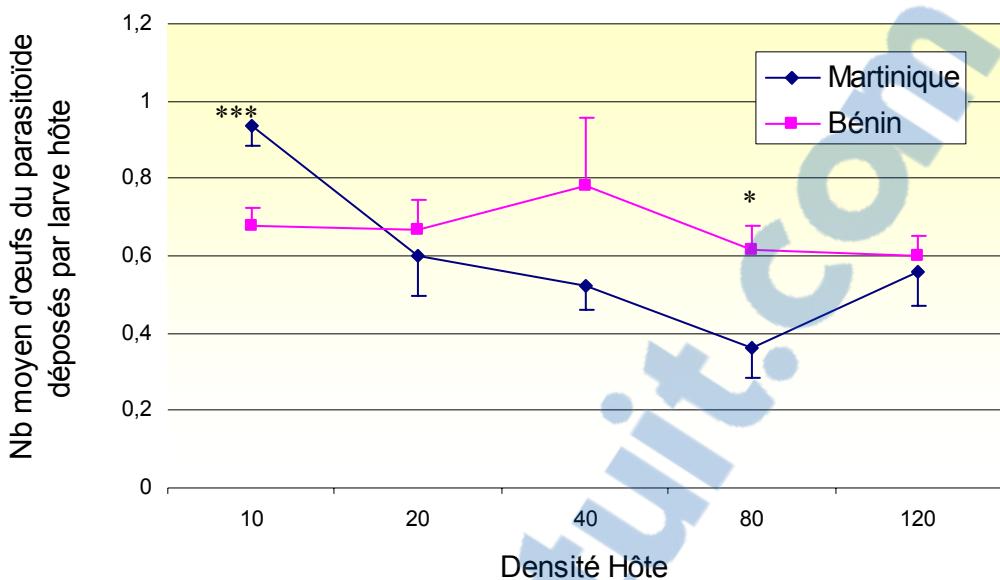


Figure 1. Activité parasitaire de deux populations de *Cotesia plutellae* en fonction de la densité hôte. Les différences significatives entre populations sont montrées par des étoiles.

Les femelles du Bénin ont parasité 57,5% ($\pm 3,0$) des hôtes (toutes densités confondues) tandis que les femelles de Martinique ont parasité 47,6 % ($\pm 3,2$) des hôtes. Cette proportion diffère significativement entre les deux populations (*glm Binomial*, $\chi^2 = 4,99$, $dl = 1$, $p < 0,05$). La densité hôte n'a eu d'effet sur la proportion d'hôtes parasités pour aucune des populations (*glm Binomial*, Bénin : $\chi^2 = 0,43$, $dl = 1$, NS, Martinique : $\chi^2 = 3,79$, $dl = 1$, NS). Les différences entre populations ne sont significatives pour aucune des densités hôte (tests non montrés).

Les femelles du Bénin ont superparasité (toutes densités confondues) 8,21 % ($\pm 1,37$) des hôtes et celles de Martinique, 10,0% ($\pm 1,91$) des hôtes. Il n'y a pas eu de différence significative entre populations (*glm Binomial*, $\chi^2 = 0,53$; $dl = 1$; NS). Pour les femelles du Bénin, la densité hôte n'a pas eu d'effet sur la proportion d'hôtes superparasités (*glm* : *pente de régression* = -0,12; NS). En revanche, la proportion d'hôtes superparasités par les femelles de Martinique diminuait avec la densité hôte (*glm* : *pente de régression* = -0,61; $p < 0,001$). (Figure 2). Les différences entre populations sont significatives uniquement pour la densité de 10 hôtes (tests non montrés).

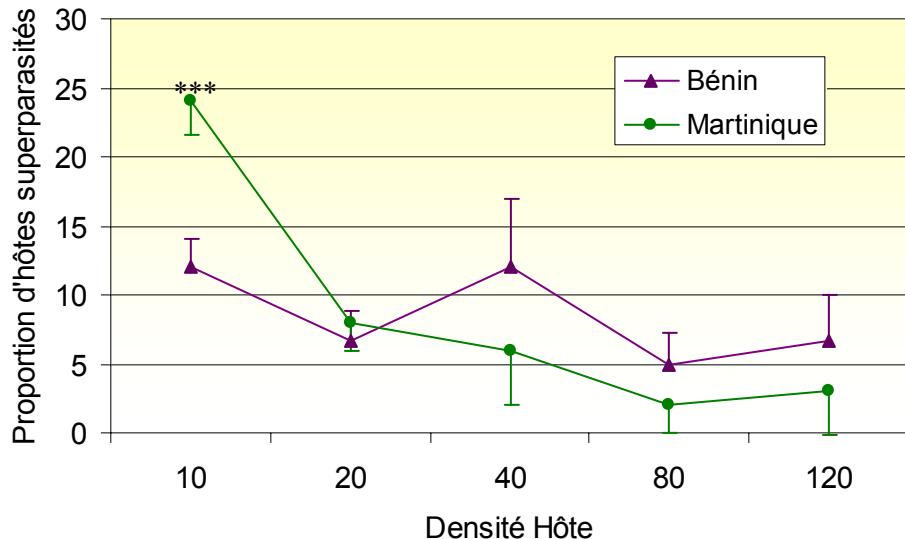


Figure 2. Proportion d'hôtes superparasités par deux populations de *Cotesia plutellae* en fonction de la densité hôte. Les différences significatives entre populations sont montrées par des étoiles.

3.1.2. Effet de la densité hôte sur la dispersion des attaques

Le comportement de superparasitisme a été observé pour les deux populations de *C. plutellae* étudiées. Le patron de dispersion des œufs était néanmoins significativement différent entre elles : le CDA estimé était de 0,65 ($\pm 0,05$) pour Bénin et de 0,83 ($\pm 0,05$) pour Martinique ($t = -2,67$, $dl = 49,67$, $p = 0,01$). Les deux populations ont présenté des patrons d'attaque sous-dispersés, avec des CDA inférieurs à ceux attendus sous l'hypothèse de distribution au hasard (i.e. modèle de Poisson). Le CDA estimé était de 0,64 pour Bénin et de 0,83 pour Martinique, significativement différent de 1 pour les deux populations ($t = 7,62$; $dl = 27$; $p < 0,001$ pour Bénin et $t = -3,27$; $dl = 24$; $p < 0,01$ pour Martinique).

La densité hôte n'a pas eu d'effet sur la dispersion des attaques ($F_{(1,51)} = 0,12$; NS). Les pontes des femelles des deux populations présentent un même patron de dispersion, indépendamment de la densité hôte.

3.2. Expérience n° 2 : Temps d'exposition et superparasitisme

3.2.1. Effet du temps d'exposition de l'hôte sur l'activité de ponte

Dans les conditions de cette expérience, tous les temps d'exposition confondus, les femelles provenant de la population d'Afrique du Sud pondent en moyenne 1,24 ($\pm 0,07$) œufs

par larve hôte, celles provenant du Bénin, 1,10 ($\pm 0,12$) et celles provenant de Taïwan, 0,80 ($\pm 0,05$). Ces valeurs diffèrent significativement entre populations ($F_{(2, 171)} = 8,33 ; p < 0,001$). Le nombre moyen d'œufs pondus par femelle en fonction du temps d'exposition est présenté dans le Tableau 1.

L'activité de ponte augmente avec le temps d'exposition pour les populations du Bénin et de Taïwan (*lm* Bénin : *pente de régression* = 0,24; $R^2 = 0,20, p < 0,001$, Taïwan : *pente de régression* = 0,10; $R^2 = 0,16, p = 0,001$). L'effet n'est pas significatif pour la population d'Afrique du Sud (*lm pente de régression* = 0,06, $R^2 = 0,03, NS$). L'activité de ponte évolue donc différemment au cours du temps entre populations, comme le confirme la significativité de l'interaction population : temps ($F_{(4, 171)} = 3,30, p = 0,01$).

Tous les temps d'exposition confondus, **le pourcentage d'hôtes parasités** est en moyenne de 70,33 % ($\pm 3,28$) pour les femelles issues de la population d'Afrique du Sud, de 67,33 % ($\pm 17,78$) pour celles originaires du Bénin et de 59,33 % ($\pm 2,77$) pour celles originaires de Taïwan. Ce pourcentage diffère significativement entre populations (*glm Binomial*, $\chi^2 = 10,77, dl = 2, p = 0,001$). La proportion d'hôtes parasités ne varie pas en fonction du temps d'exposition pour les femelles d'Afrique du Sud et du Bénin. Elle augmente avec le temps d'exposition pour celles de Taïwan (Tableau 2).

Tous les temps d'exposition confondus, **le pourcentage d'hôtes superparasités** est en moyenne de 31% ($\pm 2,66$) pour les femelles issues de la population d'Afrique du Sud, de 24,33% ($\pm 3,86$) pour celles originaires du Bénin et de 16% ($\pm 2,22$) pour celles originaires de Taïwan. Ce pourcentage diffère significativement entre populations (*glm Binomial*, $\chi^2 = 20,39; dl = 2, p < 0,001$). Le comportement de superparasitisme a été commun pour les trois populations de *C. plutellae* étudiées sous les trois périodes d'exposition. La proportion d'hôtes superparasités augmente significativement avec le temps d'exposition pour les populations du Bénin et de Taïwan mais pas pour celle d'Afrique du Sud. (Tableau 3).

Tableau 1. Nombre moyen d'œufs déposés par larve hôte par des femelles de trois populations de *Cotesia plutellae* d'origine géographique différente, en fonction du temps d'exposition des hôtes.

Origine de la Population	Temps d'exposition			$F_{(1,58)}(p)$
	2 heures	4 heures	6 heures	
Afrique du Sud	1,21 ± 0,06	1,06 ± 0,09	1,45 ± 0,06	2,61 (NS)
Bénin	0,73 ± 0,06	0,86 ± 0,05	1,70 ± 0,17	14,07 ($p < 0,001$)
Taïwan	0,57 ± 0,04	0,88 ± 0,05	0,95 ± 0,04	11,14 ($p < 0,001$)

Tableau 2. Proportion d'hôtes parasités par des femelles de *C. plutellae* issues de populations d'origine différente, en fonction du temps d'exposition des hôtes.

Origine de la Population	Temps d'exposition			Glm Binomial $\chi^2(p) dl = 1$
	2 heures	4 heures	6 heures	
Afrique du Sud	0,73 ± 0,03	0,56 ± 0,03	0,82 ± 0,03	2,00 (NS)
Bénin	0,62 ± 0,04	0,69 ± 0,03	0,71 ± 0,04	1,62 (NS)
Taïwan	0,48 ± 0,03	0,62 ± 0,02	0,68 ± 0,02	8,35 ($p < 0,01$)

Tableau 3. Proportion d'hôtes superparasités par des femelles de *C. plutellae* issues de populations d'origine différente, en fonction du temps d'exposition des hôtes.

Origine de la Population	Temps d'exposition			<i>Glm Binomial</i> $\chi^2(p) (dl = 1)$
	2 heures	4 heures	6 heures	
Afrique du Sud	0,33 ± 0,03	0,21 ± 0,05	0,39 ± 0,05	0,83 (NS)
Bénin	0,10 ± 0,03	0,16 ± 0,03	0,47 ± 0,07	39,26 (< 0,001)
Taïwan	0,09 ± 0,03	0,19 ± 0,03	0,20 ± 0,03	4,55 (< 0,1)

3.2.2. Effet du temps d'exposition sur la dispersion des attaques

Le superparasitisme a été observé pour les trois populations étudiées, dans toutes les conditions d'expérience, mais on observe un mécanisme d'évitement significatif pour deux des trois populations. Le CDA estimé est de 0,97 ($\pm 0,08$) pour la population d'Afrique du Sud, $0,61 \pm (0,06)$ pour celle du Bénin et $0,76 \pm (0,06)$ pour celle de Taïwan. Le CDA varie significativement entre populations ($F_{(2, 174)} = 7.16; p = 0,001$). Seule la population d'Afrique du Sud, présente une distribution des pontes non significativement différente du modèle poissonnien ($t = -0,26, dl = 59, NS$). Les populations du Bénin et de Taïwan ont présenté des distributions sous-dispersées, avec des CDA inférieurs à ceux attendus sous l'hypothèse de distribution au hasard ($CDA \neq 1$: Bénin : $t = 6.13, dl = 59, p < 0,001$ et Taïwan : $t = -3.84, dl = 59, p < 0,001$). Dans les conditions de cette étude, les femelles issues des populations de Bénin et de Taïwan évitent le superparasitisme tandis que celles d'Afrique du Sud semblent parasiter au hasard.

La proportion d'hôtes superparasités augmente avec le temps d'exposition pour certaines populations (Tableau 2), mais le CDA ne change pas significativement ($F_{(1,174)} =$

2,11; NS). Les femelles des trois populations suivent un même patron de distribution d'œufs indépendamment du temps d'exposition des hôtes.

3.2.3. Effet de la charge d'œufs sur l'activité de ponte

Les charges d'œufs moyennes ont été de 94,45 ($\pm 3,02$) pour Afrique du Sud, de 81,95 ($\pm 2,74$) pour Bénin et 98,39 ($\pm 3,31$) pour Taïwan. Elles diffèrent significativement entre populations ($F_{(2, 175)} = 7,98$; $p < 0,001$). On observe une corrélation significative entre la charge d'œufs et le nombre moyen d'œufs pondus lors des expériences pour les populations d'Afrique du Sud et du Bénin (Afrique du Sud : *pente de régression* = 11,52; $R^2 = 0,08$; $p < 0,05$; Bénin: *pente de régression* = 7,73; $R^2 = 0,10$; $p = 0,01$). Pour la population de Taïwan, aucune corrélation n'est observée ($R^2 = 0,001$; NS).

3.2.3. Effet de la charge d'œufs sur la dispersion des attaques

On observe une relation positive et significative entre la charge d'œufs et le coefficient de dispersion des attaques pour la population d'Afrique du Sud (*pente de régression* = 12,96, $R^2 = 0,13$, $p < 0,01$), c'est à dire une relation négative avec l'évitement du superparasitisme (i.e. plus la charge d'œufs des femelles est importante, moins elles évitent le superparasitisme). En revanche, aucune relation significative n'est observée entre charge d'œufs et CDA pour les populations du Bénin et de Taïwan (Bénin : *pente de régression* = 6,20; $R^2 = 0,02$, NS; Taïwan : *pente de régression* = 5,03, $R^2 = 0,13$, NS).

3.3. Analyse cumulée de la dispersion des attaques

Le CDA a été estimé pour l'ensemble des populations sur deux types d'expériences, en fonction du temps d'exposition ou en fonction de la densité hôte. Néanmoins, ni le temps d'exposition ni la densité hôte n'ont eu d'effet significatif sur la dispersion des attaques. De plus, pour la population du Bénin, étudiée en fonction des deux variables aucune différence n'a été observée entre les deux types d'expériences ($t = -0,44$; $dl = 85,51$; NS). Les CDA des populations ont donc été cumulés pour une analyse globale. Les différences entre populations sont significatives ($F_{(4, 228)} = 4,86$; $p < 0,001$) (Figure 3). Les groupes de populations précédemment mis en évidence pour des critères d'interfécondité et par des marqueurs génétiques et morphologiques (Rincon et al 2006) ont été analysés pour leur CDA. Les différences entre groupes sont apparues très significatives ($F_{(1, 231)} = 14,58$, $p < 0,001$), tandis que les différences entre populations d'un même groupe ne sont pas apparues significatives

(Groupe Bénin-Taïwan : $F_{(2, 145)} = 1,88$; NS; Groupe Martinique-Afrique du Sud : $F_{(1, 83)} = 1,25$; NS).

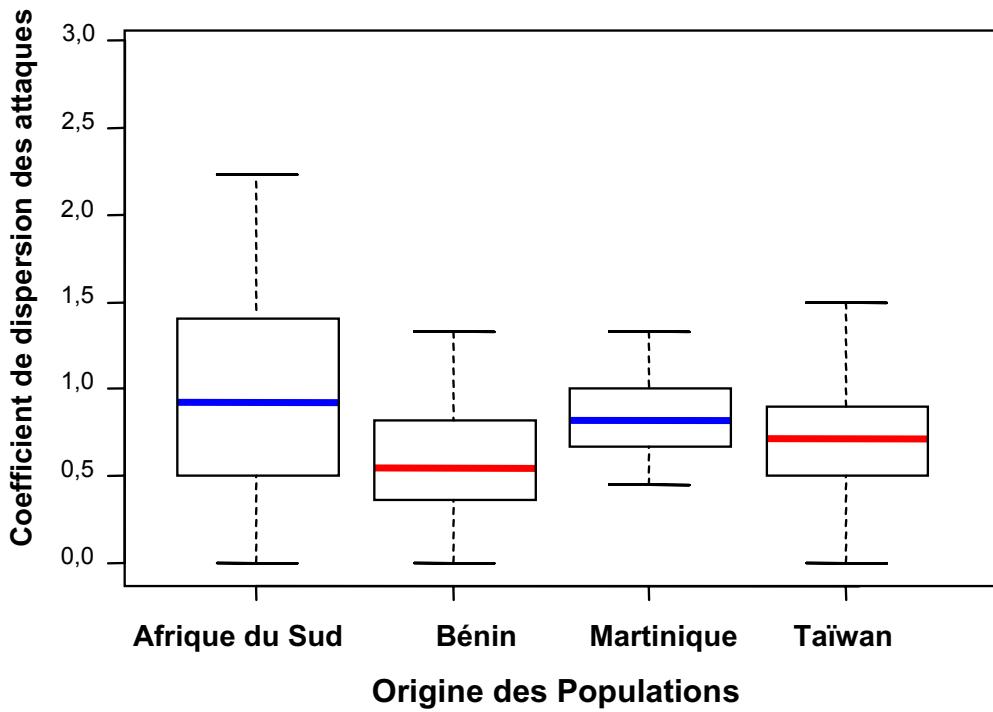


Figure 3. Coefficients de dispersion des attaques de quatre populations de *Cotesia plutellae* estimés à partir d'expériences de laboratoire. Les couleurs représentent les groupes génétiques déterminés par Rincon et al. (2006). Les lignes horizontales représentent les valeurs maximales et minimales observées. Le rectangle représente l'écart type.

4. Discussion

Les quatre populations étudiées présentent un comportement de superparasitisme. Trois d'entre elles (Bénin, Taïwan et Martinique) distribuent leurs œufs à travers le groupe d'hôtes d'une façon plus homogène qu'attendue selon le modèle poissonnien (i.e. aléatoire), ce qui démontre la capacité des femelles à discriminer les hôtes parasités des hôtes sains (Salt 1961). Malgré cette capacité les femelles acceptent de superparasiter partiellement.

Ce comportement de superparasitisme, courant chez les parasitoïdes, a été expliqué et interprété de manières très diverses. Plusieurs auteurs le considèrent comme le résultat soit de discriminations imparfaites à l'origine d'une proportion d'"erreurs" (Outreman et al. 2001)

soit d'une variabilité entre individus pour les règles de décision, complexes car basées sur la physiologie et la perception de l'environnement de chaque femelle (Mangel 1989). Varaldi et al. (2003) ont suggéré que la décision de superparasiter pourrait être induite par un agent infectieux. Sirot & Krivan (1997) l'ont considérée comme le résultat d'une interaction durable entre l'hôte et le parasitoïde (i.e. un comportement optimal qui permet de stabiliser l'interaction entre l'hôte et le parasitoïde). Plantegenest et al. (2004) ont montré par modélisation que l'acceptation partielle (et stochastique) du superparasitisme peut être *per se* un comportement adaptatif en étant la réponse optimale lorsque la disponibilité future d'hôtes est incertaine.

Les populations étudiées ici ont montré d'importantes variations dans leur acceptation partielle du superparasitisme. Elles ont présenté des patrons de dispersion des attaques significativement différents entre elles. Le coefficient de dispersion des attaques (CDA) s'est avéré indépendant de la densité en hôtes et du temps d'exposition des hôtes. Il constitue donc un marqueur comportemental des populations. Les distributions des attaques semblent en relation avec les groupes génétiques déterminés dans le Chapitre II (Rincon et al. 2006). Les populations de Martinique et d'Afrique du Sud appartenant au même groupe génétique présentent des similarités comportementales (en plus de morphométriques et génétiques, Chapitre II). Ces deux populations distribuent leurs œufs de façon significativement plus aléatoire que les deux autres, Bénin et Taïwan. Les populations qui acceptent le plus de superparasiter, celles d'Afrique du Sud et de Martinique, ont la particularité d'être soumises à des environnements où les densités d'hôte sont faibles (Dennil & Pretorius 1995). Plantegenest et al. (2004) prédisent des taux d'acceptation du superparasitisme plus importants lorsque le nombre de rencontres d'hôtes sains est faible. Si le pourcentage de parasitisme est important dans ces localités, la densité d'hôte sains y sera faible, de même que la probabilité de les rencontrer.

Dans les conditions de l'expérience, les femelles de la population du Bénin ont parasité une proportion plus importante de larves hôte que celles de Martinique (57,5% et 47,6 %). D'ailleurs, l'activité de ponte en réponse à la densité d'hôtes montre, pour les femelles de Martinique, une réponse décroissante du nombre moyen d'œufs pondus par larve en fonction de la densité hôte et une réponse constante pour la population du Bénin. Ces résultats sont en accord avec les résultats présentés dans le Chapitre III. La réponse fonctionnelle des femelles de Martinique est de type II tandis que celle des femelles du Bénin est linéaire.

Pour les femelles des populations d'Afrique du Sud et du Bénin, la charge d'œufs est corrélée à l'activité de ponte tandis que pour la population de Taïwan cette corrélation n'est pas significative. Dans les conditions des expériences, toutes les femelles ont présenté des charges ovocytaires importantes par rapport au nombre d'hôtes exposés. Néanmoins, les femelles de Taïwan ont présenté des charges ovocytaires significativement plus importantes que les femelles issues des autres populations. Il est possible que cet *excès* d'œufs plus important pour les femelles de Taïwan soit responsable de cette absence de corrélation avec l'activité de ponte.

Cotesia plutellae est un parasitoïde sinovogénique (voir Chapitre IV). La théorie prédit que ce type de femelles n'est limité par la charge ovocytaires que d'une manière transitoire. L'augmentation la dispersion des attaques avec la charge ovocytaire a été reportée uniquement pour les femelles issues de la population d'Afrique du Sud, celles-ci évitent moins le superparasitisme lorsque leur charge ovocytaire est plus importante. Les femelles du Bénin et de Taïwan ont des patrons de distribution des attaques qui ne sont pas modifiables par leur charge ovocytaire. Il est possible que cette capacité à parasiter les hôtes de façon *plus* ou *moins* aléatoire en fonction de la charge d'œufs ait évolué en réponse aux faibles probabilités instantanées de rencontrer des hôtes sains sous les conditions de terrain en Afrique du Sud (Dennill & Pretorius 1995). Si le nombre d'hôtes qu'une femelle rencontre au cours de sa vie est généralement faible, mais peut fluctuer de façon stochastique, il est possible que les femelles capables de moduler leur comportement en fonction de leur état physiologique soient favorisées. Lorsque ces femelles sont limitées par leur charge d'œufs, leur évitement du superparasitisme serait plus avantageux. Cela semble en accord avec les résultats obtenus pour les femelles de *Venturia canescens* qui sont capables de modifier leur recours au superparasitisme en fonction de leur état interne (charge ovocytaire et espérance de vie, Fletcher et al. 1994, Sirot et al. 1997). Van Alphen & Visser (1990), Visser (1993) et Sirot et al. (1997) constatent aussi que le superparasitisme est plus commun lorsque les femelles ne sont pas limitées par leur charge ovocytaires.

Bien que le rapport entre la charge ovocytaire et le patron de distribution des attaques n'ait pas été déterminé pour la population de la Martinique, la relation observée entre le comportement de superparasitisme, la densité hôte sur le terrain et les groupes génétiques permet de supposer que ces femelles de la Martinique ont évolué dans le même sens que celles de leur groupe génétique.

Cette étude prend uniquement en compte le self-superparasitisme. Godfray (1987) a conclu grâce à des travaux théoriques que ce type de comportement pouvait être adaptatif lorsque le nombre d'œufs déposés par femelle dans chaque hôte est relativement petit (i.e. deux ou trois œufs par hôte). Les fréquences d'hôtes parasités avec plus de quatre œufs sont nulles pour la première expérience (variations en fonction des densités d'hôtes) et marginales pour la deuxième (variations en fonction du temps d'exposition). D'après le même auteur, self-superparasiter peut être un comportement adaptatif lorsque le risque de superparasitisme par des conspécifiques est important. Etant donné que les femelles issues de la Martinique et de l'Afrique du Sud distribuent leurs œufs d'une façon plus aléatoire que les autres, il est possible que le risque se faire superparasiter ultérieurement par des conspécifiques soit plus importante dans ces localités. Les risques d'hyperparasitisme et de multiparasitisme pourraient aussi différer entre localités. Des études sur le terrain s'avèrent nécessaires pour étudier les relations entre les variations observées pour comportement de self-superparasitisme et les situations écologiques dans lesquelles ces populations ont évolué.

Le self-superparasitisme peut aussi être adaptatif lorsque la ponte de plusieurs œufs dans un même hôte augmente la probabilité de contourner la réaction immunitaire de ce dernier (Kitano & Nakatsuji, 1978). Malheureusement aucune étude sur les phénomènes de résistance immunitaire n'a été entreprise, à ma connaissance, pour *P. xylostella*.

La différenciation du comportement entre populations peut être le résultat de processus d'adaptation aux conditions locales, en particulier à la dynamique populationnelle de l'hôte (et en conséquence du parasitoïde). Mais aussi à des phénomènes de dérive génétique. Les populations de *C. plutellae* étudiées dans ce chapitre présentent des incompatibilités reproductive (Rincon et al. 2006) lesquelles peuvent renforcer tant les processus adaptatifs que la dérive génétique. Les différences mises en évidence par cette étude pour la distribution des attaques peuvent-elles avoir des conséquences pour la lutte biologique en termes de niveau de contrôle ou de stabilité ? Ainsi, si la variabilité géographique du comportement de superparasitisme, mis en évidence, peut être le produit de différences écologiques touchant à la dynamique des populations hôte et parasitoïde, elle peut en retour avoir des conséquences sur cette dernière et affecter le contrôle des populations. La question reste ouverte.

Chapitre VI

Discussion et conclusion générales

Discussion et conclusions générales

Les espèces, sont généralement des ensembles hétérogènes, structurés en unités géographiques i.e. les populations, qui occupent une diversité d'habitats. Parce que les habitats peuvent différer pour les pressions de sélection qui s'exercent sur les individus, les populations peuvent s'adapter localement. Chaque population peut ainsi ne représenter qu'un échantillon de l'ensemble des traits qui caractérise l'espèce. Dans le cas des parasitoïdes, dont de nombreuses espèces utilisées en lutte biologique, les populations sont soumises, en plus des variations abiotiques du milieu, aux variations biotiques de leurs hôtes, d'ordre génétique et écologique. La structuration des populations des hôtes et des parasitoïdes constitue le premier pas pour la formation de mosaïques géographiques pouvant orienter la coévolution entre les deux partenaires dans des voies différentes entre localités (sensu Thompson 1994, 1999, Althoff & Thompson 2001).

L'association spécifique entre le parasitoïde *C. plutellae* et son hôte *P. xylostella* (Cameron et al. 1998) présente la particularité d'avoir une distribution géographique très large (Talekar & Shelton 1993). Les deux espèces ont colonisé la plupart des zones de culture de Brassicacées. Sur l'ensemble de ces zones, les conditions de culture sont fort diversifiées. Elles correspondent à des systèmes de production qui vont de la petite production familiale à la grande production industrialisée et sont présentes dans des climats allant des zones tempérées où les cultures sont réalisées seulement une partie de l'année, aux zones tropicales où plusieurs cycles de culture peuvent être réalisés par an. Ce système représente un des plus grands enjeux économiques dans le domaine de l'agriculture (Talekar & Shelton 1993). La culture des Brassicacées est à la base de l'économie agricole de nombreux pays, particulièrement en Asie. *P. xylostella* est considéré comme le ravageur le plus limitant de la production.

La lutte biologique contre *P. xylostella* constitue aujourd'hui la seule alternative de contrôle efficace pour limiter les dégâts. Le ravageur a développé des résistances à tous les insecticides de synthèse actuellement utilisés (Cheng 1988, McGaughey & Whalon 1992, Sanchis et al. 1995, Tabashnik et al. 1990, Tabashnik et al. 1997). *C. plutellae* est le parasitoïde le plus utilisé (Lim 1992, Talekar 2004). Son efficacité est démontrée dans plusieurs zones mais dans d'autres le contrôle est insuffisant (e.g. Kfir 1997, Waladde et al., 1999, Guilloux 2000 Guilloux et al. 2003, Goudegnon et al. 2004). Ces variations du succès

de la lutte biologique peuvent être dues à l'environnement. Néanmoins il est possible aussi qu'elles soient la conséquence de la structuration géographique des populations du parasitoïde et de l'hôte qui ont permis la différenciation de leur interaction.

L'hôte *P. xylostella* présente des variations géographiques importantes pour la fertilité (Pichon 2004). Bien que ces résultats mesurés en conditions contrôlées ne permettent pas de conclure sur leur fertilité en conditions de terrain, ils semblent corrélés avec les densités observées lors des suivis de terrain (connues pour quelques populations, i.e. Bénin Goudegnon et al. 2004; Martinique, Bordat, non publié; Réunion, Guilloux 2000 et Afrique du Sud, Dennil & Pretorius 1995). Par ailleurs, les populations étudiées par cet auteur, montrent une structuration génétique des populations significative.

*Au cours de ce travail, je me suis intéressée à l'étude de la différenciation des populations de *C. plutellae*, entre des localités éloignées au sein de l'aire de répartition du parasitoïde. L'objectif était d'explorer la structuration géographique par différentes approches expérimentales et théoriques. Si les populations de l'hôte semblent structurées (Pichon 2004), il était possible que les populations du parasitoïde le soient de même. La structuration et la possible existence d'une mosaïque géographique coévolutive entre les deux partenaires présente, chez le modèle *P. xylostella-C. plutellae*, en plus de l'intérêt fondamental, un objectif appliqué. Lors de l'interprétation des résultats, j'ai tenté de contribuer à la compréhension des réussites et des échecs dans la lutte biologique.*

Dans une première phase, les populations ont été étudiées pour leur différenciation génétique, morphométrique ainsi que pour leur isolement reproductif. L'objectif était d'explorer leur diversité d'un point de vue *neutre*. Dans une deuxième partie, la différenciation a été explorée pour des traits comportementaux impliqués dans l'interaction avec l'hôte.

1. Différenciation neutre

Sur la base de marqueurs morphométriques et moléculaires, les populations de *C. plutellae* étudiées (Afrique du Sud, Bénin, Martinique, Réunion et Taïwan) sont apparues comme deux groupes différenciés et cohésifs. Les caractères morphométriques différenciés sont notamment associés au dimorphisme sexuel de l'espèce. Les femelles du premier groupe : Bénin, Réunion et Taïwan, nommé **Groupe Bénin**, sont plus grandes que les mâles et possèdent des antennes plus courtes que le corps. Les femelles du deuxième groupe : Martinique et Afrique du Sud, nommé **Groupe Martinique**, ont une taille similaire à celle des mâles et possèdent des antennes plus longues que le corps. Les

deux groupes sont différenciés par une mutation non-silencieuse sur le gène mitochondrial codant pour le *Cytochrome B*. Le reste du gène étant identique pour tous les individus des deux groupes. D'après les séquences du gène nucléaire d'origine virale (polydnavirus), codant pour la protéine Tyrosine Phosphatase delta (PTP delta), le groupe Bénin constitue une unité monophylétique. La monophylie du deuxième groupe n'est cependant pas démontrée par nos études. L'existence de deux écotypes différents n'est donc pas formellement démontrée sur la base de ce marqueur. Néanmoins, la divergence moléculaire pour ce marqueur entre les populations des deux groupes se situe entre 1,0 % et 1,8 %. Elle n'est pas négligeable par rapport à celle obtenue entre espèces de *Cotesia* spp. (*C. plutellae-C. flavipes* : 6,1 %, *C. plutellae-C. congregata* : 12,7 %, Drezen & Dupas, en préparation).

D'un point de vue reproductif, les populations appartenant à un même groupe sont plus compatibles entre elles que celles appartenant à deux groupes différents. Ces groupes ne peuvent cependant pas être considérés comme deux espèces différentes, car l'isolement reproductif entre eux n'est que partiel. L'isolement entre les populations de *C. plutellae* semble dû à des facteurs génétiques, mais influencée par l'infection par *Wolbachia*. Il n'a pas été observé d'isolement au niveau pré-copulatoire, et parce que les hybrides inter-populations n'ont pas montré de dépression hybride (il n'y a pas eu de réduction de leur valeur sélective), nos résultats suggèrent un isolement post-copulatoire et pré-zygotique (Article 2). Bien que la phylogéographie de *C. plutellae* ne soit pas connue, et qu'elle soit certainement rendue confuse du fait des introductions multiples, il est probable que ce type d'isolement, associé à une différentiation génétique relativement importante, ait évolué en allopatrie.

2. Différenciation de traits comportementaux impliqués dans l'interaction avec l'hôte

La différentiation des populations a été étudiée pour le comportement parasitaire des adultes et sa plasticité en fonction de variations des conditions de densité d'hôtes et de parasitoïdes, entre autres. Une différentiation a été mise en évidence. La structuration géographique du comportement observée est très similaire à la structuration génétique décrite plus haut (Tableau 1) :

- Deux types de réponse aux variations de densité d'hôtes et de parasitoïdes ont été définis: le **type Bénin** répond efficacement aux incrément de densité hôte, mais est

sensible à l'interférence mutuelle. Le **type Martinique** répond moins efficacement à la densité hôte mais est moins sensible à la densité de parasitoïdes (Chapitre III).

- Deux déterminismes du sexe-ratio ont été identifiés : le type Bénin maintient constant le sexe-ratio (i.e. proportion de mâles) de sa descendance en présence de compétitrices. Le type Martinique augmente le sexe-ratio de sa descendance en présence de compétitrices. Les deux types de réponse correspondent à deux modèles théoriques expliquant le déterminisme du sexe-ratio en fonction des structures d'accouplement. Pour le type Benin, le modèle de Fisher (panmixie) explique les données obtenues en laboratoire. Le modèle de Hamilton (*Local Mate Competition*) explique les données obtenues pour le type Martinique. Les types Bénin et Martinique produisent un excès de mâles par rapport aux modèles théoriques. Cet excès est plus important pour le type Martinique que pour le type Bénin. Il existe une fraction significative de femelles contrainte à ne produire que des mâles. Cette fraction est plus importante pour le type Martinique que pour le type Bénin (Chapitre IV).
- Deux types de distribution des attaques ont été définis. Le type Bénin parasite de façon sous-dispersée, évitant le superparasitisme. Le type Martinique parasite d'une façon significativement *plus* aléatoire que le type Bénin et évite moins le superparasitisme (Chapitre V). Statistiquement, la population de Taïwan appartient au type Bénin et la population d'Afrique du Sud appartient au type Martinique.

Cet ensemble de résultats a été obtenu sous conditions de laboratoire et nous ne pouvons pas inférer sur le comportement des individus sur le terrain. D'une autre part, l'analyse du comportement n'a pas été réalisée pour toutes les populations analysées dans le point 1. Pour les études de réponse fonctionnelle et d'interférence mutuelle, ainsi que pour le déterminisme du sexe-ratio, seulement une population de chaque type a été analysée (Tableau 1). Néanmoins, pour toutes les études réalisées, les groupes définis par des caractères morphométriques et génétiques (point 1) apparaissent comme cohésifs vis-à-vis de leurs réponses comportementales aux stimuli environnementaux. L'existence d'au moins deux écotypes comportementaux au sein de l'espèce est ainsi soutenue par ce travail.

L’existence et la nature de ces deux écotypes différentiés peut être discutée sur la base de la cohérence entre les caractères (i.e. coadaptation) et de la correspondance de l’ensemble par rapport à un profil de conditions environnementales.

Les traits comportementaux qui définissent les écotypes sont-ils coadaptés ?

L’origine évolutive de ces différences comportementales entre les deux écotypes a été explorée à l’aide d’une étude théorique (Chapitre III) et discutées sur la base des observations de terrain (voir discussion Chapitres III, IV et V), connues au moins d’une manière partielle (Goudegnon et al. 2004, Bordat non publié, Guilloux 2000, Pichon 2004). La Figure 1 synthétise nos hypothèses sur le caractère coadaptatif entre les traits caractérisant chaque écotype. Ils sont rassemblés sous des conditions environnementales qui concernent la dynamique de la population hôte

Tableau 1. Structuration morphométrique, génétique et comportementale des populations de *C. plutellae*

Population	Marqueur utilisé								
	Morphométrie		Séquences nucléiques		Comportement parasitaire				
			<i>Cytochrome B</i> Position 311	PTPdelta	Réponse Fonctionnelle	Réponse à l'interférence	Réponse à la LMC	Acceptation du superparasitisme	Adaptation du comportement à la charge ovocytaire
Afrique du Sud	M	C	Autre clade					+	Oui
Martinique	M	C	Autre clade	Type II	forte	Oui		+	
Bénin	B	T	Clade B	Type I	faible	Non		-	Non
Taiwan	B	T	Clade B					-	Non
Réunion	B	T	Clade B						

M : morphométrie de type Martinique, corps des femelles plus courts que leurs antennes et de taille similaire à celle du corps des mâles. B : morphométrie de type Bénin, corps des femelles plus longs que leurs antennes et plus longs que ceux des mâles.

C : Cytosine en position 311 sur le gène codant pour le *Cytochrome B*; T : Tyrosine en position 311 sur le gène codant pour le *Cytochrome B*.

Clade B, groupe monophylétique défini par inférence Bayésienne sur des séquences du gène virale (polydnavirus) intégré au génome nucléaire du parasitoïde, codant pour la protéine tyrosine phosphatase delta (PTPdelta).

Type I et II : Réponses fonctionnelles (Holling 1959) ajustés par maximum de vraisemblance aux données expérimentales.

Réponse à l'interférence : estimée par le paramètre d'interférence du modèle Beddington-De Angelis, ajusté par maximum de vraisemblance aux données expérimentales.

Réponse à la LMC : estimée par ajustement des modèles de Hamilton et Fisher. Oui : meilleur modèle Hamilton, Non : meilleur modèle Fisher

Acceptation du superparasitisme : estimée par le coefficient de dispersion des attaques. - : attaques plus sous-dispersées qu'attendu sous le modèle de Poisson. + : attaques significativement plus aléatoires que "-" (mais aussi sous-dispersées).

Adaptation du comportement à la charge ovocytaire : Oui : augmentation de la dispersion des attaques lorsque la charge ovocytaire est plus importante. Non : dispersion des attaques non modifiée par la charge ovocytaire.

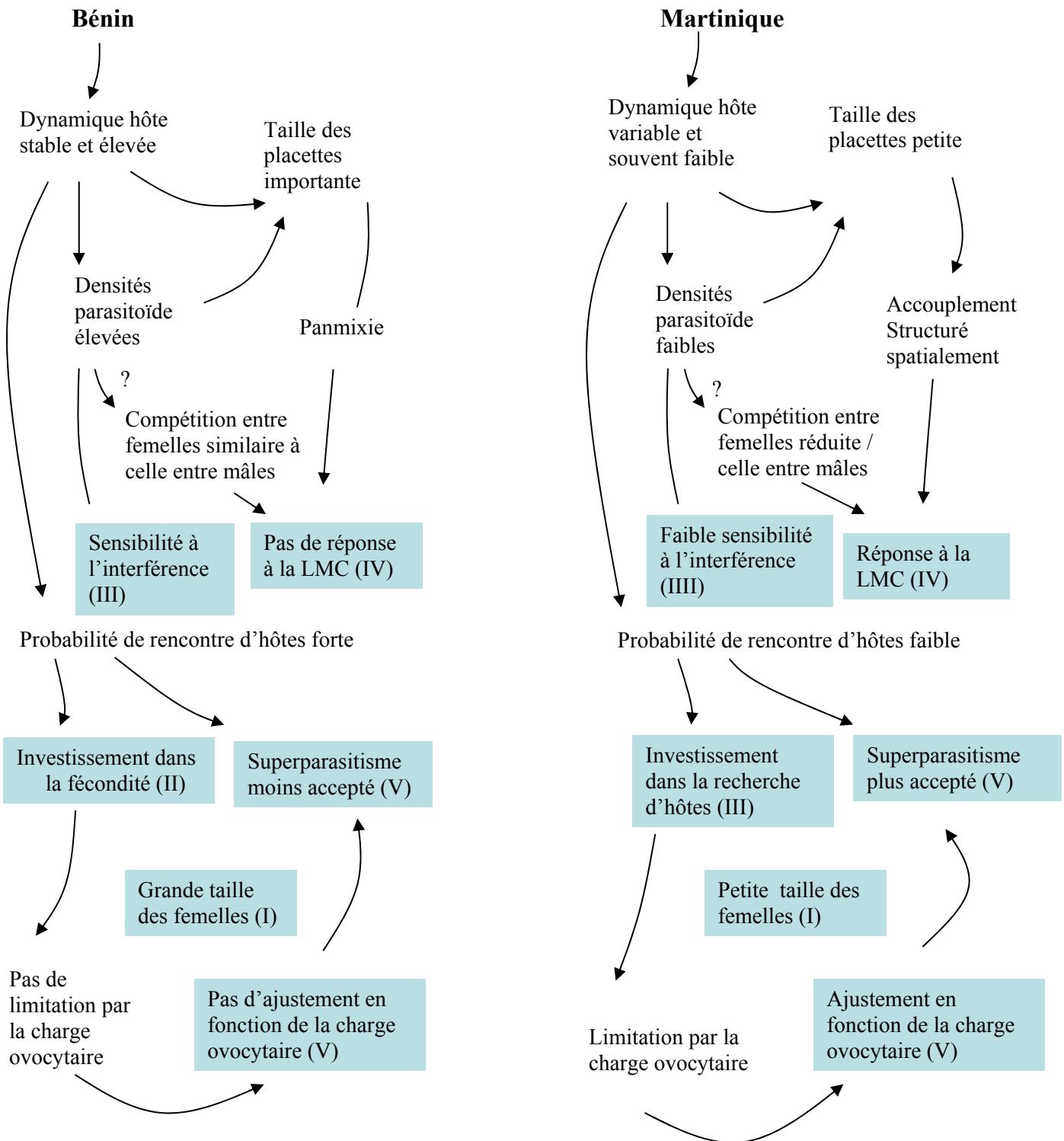


Figure 1. Hypothèses sur la coadaptation entre les traits comportementaux analysés au cours de la thèse (figurant en encadré sur fond bleu). Voir les chapitres indiqués entre parenthèses.

Légende de la Figure 1 : Les différences de dynamique hôte auraient des effets en cascade sur un ensemble de caractères comportementaux :

Au Bénin, la culture du chou se réalise tout le long de l'année, la dynamique hôte est stable et les densités hôte et parasitoïde sont plus importantes. La taille des placettes (nombre de larves par feuille, par feuilles proches ou par plant) serait plus importante, ce qui limiterait la structuration des accouplements entre parasitoïdes (Chapitre IV). En outre, les densités de parasitoïdes sur les placettes seraient toujours importantes, donc l'ajustement du sexe-ratio en fonction de la densité de parasitoïdes n'aurait pas pu évoluer. La sensibilité à l'interférence aurait évolué comme une forme de réponse à la compétition. Les parasitoïdes de l'écotype Bénin auraient *investi* davantage dans la fécondité (Chapitre IV, tables de vie) que dans la capacité de recherche de l'hôte (Chapitre III), qui est toujours accessible. L'évitement du superparasitisme sous conditions de forte probabilité de rencontre d'hôtes, serait favorable (Chapitre V). Les femelles n'ajusterait pas leur comportement de superparasitisme en fonction de leur charge ovocytaire (qui n'est pas limitante).

En Martinique, la culture du chou se réalise durant une courte période de l'année, la dynamique hôte est plus instable et les densités d'hôtes et de parasitoïdes sont plus faibles. La taille des placettes est plus petite, ce qui permettrait la mise en place d'une structure d'accouplements (Chapitre IV). Les densités de parasitoïdes seraient variables, la capacité d'ajustement du sexe-ratio en fonction de la densité aurait pu évoluer, comme une réponse à la compétition, elle-même variable. La réponse à l'interférence mutuelle se refléterait par la modification du sexe-ratio davantage que par une réduction de l'activité parasitaire, en fonction de la densité de compétitrices (Chapitre III). Les femelles de l'écotype Martinique auraient *investi* davantage dans l'estimation de la densité de compétitrices que dans la fertilité. La faible densité d'hôtes entraînerait une plus faible probabilité de rencontre de l'hôte, les femelles auraient aussi *investi* davantage dans la capacité de recherche (Chapitre III). L'évitement du superparasitisme en conditions de faible probabilité de rencontre d'hôtes, serait moins favorable. Les parasitoïdes de Martinique éviteraient le superparasitisme de façon plus importante lorsqu'ils seraient limités par leur charge ovocytaire (Chapitre V).

Hypothèses sur l'évolution des deux groupes

Bien qu'aucune introduction de *C. plutellae* n'ait été répertoriée dans la littérature pour les localités étudiées lors de ce travail, les populations ont du y être introduites, même involontairement, notamment sur les îles (i.e. Réunion, Taïwan et Martinique). La correspondance observée entre les caractères morphométriques, génétiques et comportementaux suggère l'existence d'au moins deux écotypes distincts au sein de cette espèce : un écotype Bénin et un écotype Martinique. Il est vraisemblable que ces deux écotypes aient évolué de façon ancienne, comme le suggère la différentiation relativement importante sur les gènes PTP delta. Les deux groupes auraient divergé, certainement en allopatrie, en réponse à la dérive génétique et/ou à la sélection naturelle, dans leurs zones d'origine (à définir). Ensuite, elles auraient été introduites dans les localités étudiées au cours de ce travail. Leur différenciation daterait donc d'avant leur introduction.

La question qui peut intéresser la lutte biologique et son optimisation est de savoir si les conditions locales auxquelles elles sont actuellement soumises ont encore quelque rapport avec les caractères qu'elles exhibent. Une adéquation entre l'écotype du parasitoïde, le génotype de l'hôte et l'environnement aurait lieu lorsque l'écotype introduit correspond à l'optimum du point de vue de la sélection naturelle, pour l'interaction hôte-environnement dans la zone introduite.

Trois possibilités sont envisagées :

1. Scénario 1 : introduction aléatoire, pas d'adéquation écotype-hôte-environnement

Les introductions des écotypes du parasitoïde se réalisent de façon aléatoire. Des différences dans les taux locaux de contrôle exercé par le parasitoïde sont le résultat des interactions qui s'établissent entre l'écotype du parasitoïde, la génétique de l'hôte et l'environnement.

2. Scénario 2 : introduction non aléatoire, adéquation écotype-hôte-environnement

Du fait que les populations introduites sont recherchées dans des zones où le climat est similaire à celui de la zone d'introduction (van Klinken et al. 2003) et du fait que la

dynamique hôte est fortement influencée par le climat, il est possible qu'il y ait adéquation entre l'écotype du parasitoïde, la génétique de l'hôte et l'environnement.

3. Scénario 3 : introduction aléatoire, sélection naturelle des adéquations écotype-hôte-environnement

Bien que les introductions se réalisent de façon aléatoire, seules celles qui introduisent l'écotype correspondant à l'optimum du point de vue de la sélection naturelle, pour l'interaction hôte-environnement dans la zone introduite, pourrait s'installer avec succès. Ainsi un écotype nécessiterait d'un ensemble de conditions agro-écologiques pour assurer son maintien.

Etant donné que l'histoire phylogéographique de l'espèce est très peu connue (seulement quelques introductions ont été recensées, revu par Guilloux 2000) et que les conditions agro-écologiques de ces zones n'ont pas été caractérisés avec précision, nous ne pouvons pas soutenir l'un de ces scénarios plus que l'autre.

Remarquons que l'adéquation entre l'écotype l'hôte, le génotype de l'hôte et l'environnement comme produit de la sélection naturelle, n'implique pas un taux de contrôle optimal pour la lutte biologique, comme le suggère le travail de modélisation effectué dans le Chapitre III.

Conclusion : dans la perspective d'une coévolution en mosaïque géographique *P. xylostella*- *C. plutellae*

Au cours de ma thèse, j'ai pu démontrer la différentiation entre populations de *C. plutellae* pour des traits neutres ainsi que pour des traits comportementaux impliqués dans l'interaction avec l'hôte. Des hypothèses explicatives ont été avancées sur le processus de leur différentiation. Une correspondance est observée pour l'ensemble des traits analysés, i.e. toutes les populations appartenant au même écotype présentent l'ensemble des traits qui définissent l'écotype. Cette correspondance supporte l'existence d'au moins deux écotypes comportementaux différents au sein de l'espèce. D'après nos études, nous ne sommes pas en mesure d'affirmer que la différenciation entre populations est d'origine adaptative. Cependant, nos travaux de modélisation ainsi que l'interprétation des résultats (i.e. la possible coadaptation de traits), nous conduisent à proposer deux hypothèses : (i) les écotypes ont évolué avant leur introduction dans leurs zones où ils ont été collectés et (ii) leur évolution

s'est produite en réponse à des dynamiques populationnelles locales de l'hôte *P. xylostella*. Ces dynamiques seraient elles-mêmes le résultat de l'interaction des génotypes hôte et parasitoïde et des conditions agro-écologiques de leur zone d'origine.

La complexité des interactions entre les différents mécanismes comportementaux qui définissent les écotypes et la diversité des hypothèses faites concernant les interactions entre ces mécanismes et la dynamique hôte nous conduisent à rester prudents quant à la nature de ces écotypes. De nouvelles études permettraient de préciser nos hypothèses de travail. La comparaison entre localités des structures d'accouplement à l'aide de marqueurs moléculaires permettrait de mieux comprendre les différences observées pour la réponse à la LMC. Nos prédictions théoriques sur l'évolution des caractères comportementaux étudiés en fonction de la dynamique hôte pourraient être confrontées à des données de suivis de dynamique dans les cinq localités des populations étudiées lors de ce travail.

Les travaux de cette thèse suggèrent une réponse adaptative du comportement du parasitoïde à la dynamique hôte. Une réponse réciproque de l'hôte à l'évolution du parasitoïde, pourrait conduire à un processus de coévolution. Une telle réponse de l'hôte pourrait concerter les traits responsables de la dynamique populationnelle : la fertilité, la taille et la distribution spatiale et temporelle des pontes (voir Pichon 2004), qui auraient évolué en réponse, entre autres, à la sélection exercée par le parasitoïde. On observerait par exemple, une structuration pour des traits à l'origine d'un changement dans la distribution spatiale des pontes, permettant d'augmenter la probabilité d'échapper au parasitoïde. Il s'agirait alors d'une forme de résistance comportementale, qui varierait en fonction du comportement du parasitoïde. Comprendre le fonctionnement de ce type d'interaction coévolutive, multifactorielle entre comportement hôte et comportement parasitoïde pourrait, à terme, constituer une des clés de la gestion raisonnée des introductions en lutte biologique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Agresti, A. (1996).** *An introduction to categorical data analysis*. Wiley, New York. 312 p.
- Akaike, H. (1973).** Information theory and extension of the maximum likelihood principle. pp. 267-281 dans : *Proceedings of the 2nd International Symposium of Information Theory*, Petrov, B.N. & Csaksi, F. eds. Akademiai Kiado, Budapest..
- Allee, W.C. (1931).** *Animal Aggregations, a Study in General Sociology*. The University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Allee, W.C. (1938).** *The Social Life of Animals*. Norton, New York, NY.
- Allee, W.C. (1958).** *The Social Life of Animals*. Revised edn. Beacon Press, Boston, MA.
- Alphen, J.J.M. Van & Vet, L.E.M. (1986).** An evolutionary approach to host finding and selection. pp. 23-61 dans: *Insect Parasitoids*. Waage J. & Greathead D. eds. Academic Press.
- Alphen, J.J.M. Van & Visser, M.E. (1990).** Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology* **35**: 59–79.
- Alphen, J.J.M. Van & Jervis, M.A. (1996).** Foraging behavior. pp. 1-62 dans : *Insect Natural Enemies*. Jervis, M.A and Kidd, N. eds. Chapman & Hall, Oxford.
- Alphen, J.J.M. Van, Bernstein, C. & Driessen, G. (2003).** Information acquisition and patch time allocation in insect parasitoids. *Trends in ecology & evolution*. **18**: 81-87
- Althoff, D.M. & Thompson, J.N. (2001).** Geographic structure in the searching behaviour of a specialist parasitoid: combining molecular and behavioural approaches. *J. Evol. Biol.* **14**: 406-417.
- Amat, I. (2004).** Écologie comportementale et maintien du sexe : Influence de la dispersion et de la compétition sur la dynamique de populations sexuées et asexuées chez le parasitoïde *Venturia canescens*. *Thèse de doctorat*. Université Claude Bernard Lyon1. France.
- Arakaki, N., Miyoshi, T. & Noda H. (2001).** Wolbachia-mediated parthenogenesis in the predatory thrips *Franklinothrips vespiformis* (Thysanoptera: Insecta). *Proc. R. Soc. London Ser. B Biol. Sci.* **268** : 1011-1016.
- Asgari, S. & Schmidt, O. (1994).** Passive protection of eggs from the parasitoid, *Cotesia rubecula*, in the host, *Pieris rapae*. *J. Insect Physiol.* **40**: 789-795.
- Baalen, M. Van (2000).** The evolution of parasitoid egg load. pp. 103–120 dans: *Parasitoid Population Biology*, Hochberg M.E. & Ives, A.R. eds. Princeton University Press, Princeton.
- Baalen van, M. & Sabelis, M.W. (1993).** Coevolution of patch selection strategies of predator and prey and the consequences for ecological stability. *The American Naturalist* **142**: 646-670.
- Baaren, J. Van, Landry, B.L. & Boivin, G. (1999).** Sex allocation and larval competition in a superparasitizing solitary egg parasitoid: competing strategies for an optimal sex ratio. *Functional Ecology* **13**: 66-71.

- Baker J.E. & Weaver D.K., (1993).** Resistance in field strains of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera, Pteromalidae) and its host, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera, Curculionidae), to malathion, chlorpyrifos-methyl, and pirimiphos-methyl. *Biological Control* **3**: 233-242.
- Baker D.A., Loxdale H.D. & Edwards O.R. (2003).** Genetic variation and founder effects in the parasitoid wasp, *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiidae), affecting its potential as a biological control agent. *Molecular Ecology* **12**: 3303-3311.
- Balachowsky, A.S. (1966).** Hyponomeutidae - sous-famille des Plutellinae. pp. 218-229 dans: *Entomologie appliquée à la agriculture*. Masson, Paris.
- Barton, N.H. & Charlesworth, B. (1984).** Genetic revolutions, founder effects and speciation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **15**: 133-164.
- Bayram, A., Salerno, G., Conti, E., Wajnberg, E., Bin, F. & Kornosor, S. (2004).** Sex allocation in *Telenomus busseolae*, a solitary parasitoid of concealed eggs: the influence of host patch size. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **111**: 141-149.
- Baudry, E., Emerson, K., Whitworth, T. & Werren, J.H. (2003).** *Wolbachia* and genetic variability in the birdnest blowfly *Protocalliphora sialia*. *Molecular Ecology* **12** : 1843-1854.
- Beckage, N.E. (1998).** Modulation of immune responses to parasitoids by polydnaviruses. *Parasitology* **116**: S 57-64.
- Beddington, J.R. (1975).** Mutual interference between parasites or predators and its effect on searching efficiency. *Journal of Animal Ecology* **44**: 331-340.
- Benkman, C.W. (1993).** Adaptation to single resources and the evolution of crossbill (*Loxia*) diversity. *Ecol. Mono.* **63**: 305-325.
- Benkman, C.W. (1999).** The selection mosaic and diversifying coevolution between crossbills and lodgepole pine. *The American Naturalist*. **154**: S75-S91.
- Berberet, R.C., Zarrabi, A.A., Payton, M.E. & Bisges, A.D. (2003).** Reduction in effective parasitism of *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae) by *Bathyplectes curculionis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) due to encapsulation. *Environmental Entomology* **32**: 1123-1130.
- Bernstein, C., Kacelnik, A., & Krebs, J.R. (1988).** Individual decisions and the distribution of predators in a patchy environment. *Journal of Animal Ecology* **57**: 1007-1026.
- Bernstein, C. & Driessen, G. (1996).** Patch-marking and optimal search patterns in the parasitoid *Venturia canescens*. *Journal of Animal Ecology* **65**: 211-219.
- Bernstein, C., Auger, P., & Poggiale, C. (1999).** Predator migration decisions, the ideal freedistribution, and predator-prey dynamics. *Am. Nat.* **153**: 267-281.
- Bernstein, C. (2000).** Host-parasitoid models: the story of a successful failure. pp. 41-57. dans: *Parasitoid Population Biology*. Hochberg M.E. & Ives, A.R.). Princeton University Press.

- Biever, K.D., Hostetter, D.L. & Kernn, J.R. (1994).** Evolution and implementation of a biological control-IPM system for crucifers: 24 year case history. *The American Entomologist* **40**: 103-108.
- Bock, W.J. (2004).** Species: the concept, category and taxon. *Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research* **42**: 178-190.
- Bordenstein, S.R., O'Hara, F.P. & Werren, J.H. (2001).** *Wolbachia*-induced bidirectional incompatibility precedes other hybrid incompatibilities in *Nasonia*. *Nature* **409**: 707-710.
- Bouchon, D., Rigaud, T. & Juchault, P. (1998).** Evidence for widespread *Wolbachia* infection in isopod crustaceans: molecular identification and host feminisation. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* **265**: 1081-1090.
- Boulétreau, M. (1986).** The genetic and coevolutionary interactions between parasitoids and their hosts. pp. 169-200 dans: *Insect Parasitoids*, J.Waage & D.Greathead eds. Academic press, London.
- Breeuwer, J.A.J. & Jacobs G. (1996).** *Wolbachia*: intracellular manipulators of mite reproduction. *Exp. Appl. Acarol.* **20**: 421-434.
- Bourchier, R.S. & Smith, S.M. (1996).** Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **80**: 461-468.
- Breeuwer J.A.J. & Werren J.H. (1990).** Microorganisms associated with chromosome destruction and reproductive isolation between two insect species. *Nature* **346**: 558-560.
- Breeuwer, J.A.J. & Werren, J.H. (1993).** Cytoplasmic incompatibility and bacterial density in *Nasonia vitripennis*. *Genetics* **135**: 565-574.
- Briese, D.T. (2003).** The centrifugal phylogenetic method used to select plants for host-specificity testing of weed biological control agents: can and should it be modernised? dans: *Improving the Selection, Testing and Evaluation of Weed Biological Control Agents*. CRC Technol. 7: 23-33.
- Bruins, E.B.A.W., Wajnberg, E. & Pak, G.A. (1994).** Genetic variability in the reactive distance in *Trichogramma brassicae* after automatic tracking of the walking path. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **72**: 297-303.
- Burdon, J.J. & Thompson, J.N. (1995).** Changed patterns of resistance in a population of *Linum marginale* attacked by the rust pathogen *Melampsora lini*. *Journal of Ecology* **83**: 199-206.
- Cameron, P.J., Walker, G.P. & Keller, M.A. (1998).** Comparative measures of the host specificity of *Cotesia rubecula* and *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae). pp. 512-516 dans: Zalucki,M. P., Drew, R. A. I., White, G. G. eds. *Pest Management: Future Challenges. Proceedings of the Sixth Australian Applied Entomological Research Conference*. The University of Queensland, Brisbane, Australia .

- Carroll, S.P. & Boyd, C. (1992).** Host race radiation in the Soapberry Bug: Natural History with the History. *Evolution* **46**: 1053-1069.
- Carroll, S.P., Dingle, H. & Klassen, S.P. (1997).** Genetic differentiation of fitness-associated traits among rapidly evolving populations of the soapberry bug. *Evolution* **51**: 1182-1188.
- Carroll, S.P. & Corneli, P.S. (1999).** The evolution of behavioral reaction norms as a problem in ecological genetics: theory, methods and data. pp. 52-68 dans: *The Evolution of Behavioral Phenotypes; Perspectives from the Study of Geographic Variation*. Foster, S. & Endler, J. eds Oxford University Press, Oxford.
- Carson H.L. & Templeton A.R. (1984).** Genetic revolutions in relation to speciation phenomena the founding of new populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **15**: 97-131.
- Chang, G.C. & Kareiva, P. (1999).** The case for indigenous generalists in biological control. pp. 103-115 dans: *Theoretical Approaches to Biological Control*, Hawkins B. & Cornell H.V. eds. Cambridge University Press.
- Chapuisat, M. & Keller, L. (1999).** Testing kin selection with sex allocation data in eusocial Hymenoptera. *Heredity* **82**: 473-478.
- Chassain C., Boulétreau M. & Fouillet P. (1988).** Host exploitation by parasitoids: local variations in foraging behaviour of females among populations of *Trichogramma* species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **48**: 195-202.
- Charnov, E.L. (1976).** Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology* **9**: 129-136.
- Charnov, E.L. (1982).** *The Theory of Sex Allocation*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Chaves, H.A., Diaz, F.A. & Briceño, R.A. (1993).** Introducción a Venezuela y biología de *Cotesia plutellae* (Kurdj.) (Hym.: Braconidae), parasitoide de *Plutella xylostella* (L.)
- Chelliah, S. & Srinivasan, K. (1986).** Bioecology and management of diamondback moth in India. pp. 63-76 dans: Talekar, N. T., Griggs, T. D. eds. *Diamondback moth management: Proc. of the 1st Int. Workshop*. Shanhua, Taiwan: Asian Vegetable Research and Development Center.
- Cheng, E.Y. (1988).** Problems of control of insecticide-resistant *Plutella xylostella*. *Pesticide Science* **23**: 177-188.
- Chen Y., Giles K.L. & Greenstone, M.H. (2001).** Molecular Evidence for a Species Complex in the Genus *Aphelinus* (Hymenoptera: Aphelinidae), with Additional Data on Aphidiine Phylogeny (Hymenoptera: Braconidae). *Annals of the Entomological Society of America* **95**: 29-34.
- Chen Y.P., Taylor P.B., Shapiro M. & Gundersen-Rindal D.E. (2003).** Quantitative expression analysis of a *Glyptapanteles indiensis* polydnavirus protein tyrosine phosphatase gene in its natural lepidopteran host, *Lymantria dispar*. *Insect Mol. Biol.* **12**: 271-80

- Chen W.L., Leopold R.A. & Harris M.O. (2006).** Parasitism of the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae): Functional response and superparasitism by *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae). *Biological Control* **37**: 119-129.
- Cock, M.J.W. (1985).** A review of biological control of pests in the Commonwealth Caribbean and Bermuda up to 1982. Technical Communication n° 9 of the Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK. 218 p.
- Colazza, S. & Wajnberg, E. (1998).** Effects of host egg mass size on sex ratio and oviposition sequence of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Environmental Entomology* **27**: 329-336.
- Combes, C. (1995).** *Interactions durables. Écologie et évolution du parasitisme*. Ed. Masson 518 p.
- Cordero, J. & Cave, R.D. (1992).** Natural enemies of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) on crucifers in Honduras. *Entomophaga* **37**: 397-407.
- Coyne, J.A. & Orr, H.A. (1989).** Patterns of speciation in *Drosophila*. *Evolution* **43**: 362-381.
- Corley, L. & Strand, M.R. (2003).** Evasion of encapsulation by the polyembryonic parasitoid *Copidosoma floridanum* is mediated by a polar body-derived extraembryonic membrane. *J. Invert. Pathol.* **8**: 86-89.
- Crowley, P.H. & Martin, E.K. (1989)** Functional responses and interference within and between year classes of a dragonfly population. *Journal of the North American Benthological Society*, **8**: 211–221.
- De Angelis, D.L., Goldstein, R.A. & O. Neil, R.V. (1975).** A model for tritrophic interactions. *Ecology* **56**: 881-892.
- DeBach, P. & Rosen, D. (1991).** *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press, Cambridge. 440 p.
- Debout, G., Fauvergue, X. & Fleury, F. (2002).** The effect of foundress number on sex ratio under partial local mate competition. *Ecological Entomology* **27**: 242-246.
- Dedeine, F., Vavre, F., Fleury, F., Loppin, B., Hochberg, M. E. & Boulétreau, M. (2001).** Removing symbiotic *Wolbachia* bacteria specifically inhibits oogenesis in a parasitic wasp. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **98**: 6247-6252.
- Delvare, G. (2002).** Taxonomic status and role of Hymenoptera in biological control of DBM, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). pp. 21-24 dans: Kirk, A. A., Bordat, D. eds. *Improving biocontrol of Plutella xylostella: Proceedings of the International Symposium, Montpellier, France, 21-24 October 2002*.
- Dennill G.B. & Gordon A.J. (1990).** Climate related differences in the efficacy of the Australian gall wasp (Hymenoptera, Pteromalidae) released for the control of *Acacia longifolia* in South Africa. *Environmental Entomology* **19**: 130-136.

- Dennill, G.B. & Pretorius, W.L. (1995).** The status of diamondback moth *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera : Plutellidae), and its parasitoids on cabbages in South Africa. *African Entomology* **3**: 65-71.
- Dicke, M. & Sabelis, M.W. (1988).** How plants obtain predatory mites as bodyguards. *Netherlands Journal of Zoology* **38**: 148-165
- Dobzhansky, T. (1937).** *Genetics and the Origin of Species*, Columbia University Press.
- Dubuffet, A., Álvarez, C., Rodríguez, I., Drezen, J.-M., van Alphen, J.J.M. & Poirié, M. (2006).** Do parasitoid preferences for different host species match virulence? *Physiological Entomology*, in press.
- Dupas, S., Carton, Y. & Poirié, M. (2003).** The genetic dimension of the coevolution of virulence resistance in *Drosophila* - parasitoid wasp relationships. *Heredity* **90**: 84-89.
- Dutton, A., Cerutti, F. & Bigler, F. (1996)** Quality and environmental factors affecting *Trichogramma brassicae* efficiency under field conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **81**: 71-79.
- Ebbert, M.A. (1993).** Endosymbiotic sex ratio distorters in Insects and Mites. pp. 150-191 dans: Wrensch, D.L. & Ebbert, M.A. eds. *Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites*. Chapman & Hall, New-York.
- Ebert, D. (1994).** Virulence and local adaptations of a horizontally transmitted parasite. *Science* **265**: 1084-1086.
- Ebert, D. (1998).** Experimental evolution of parasites. *Science* **282**: 1432-1435.
- Eigenbrode, S.D., Shelton, A.M. & Dickson, M.H. (1990).** Two types of resistance to the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in cabbage. *Environmental Entomology* **19**: 1086-1090.
- Eigenbrode, S.D. & Shelton, A.M. (1992).** Resistance to diamondback moth in Brassica: Mechanisms and potential for resistant cultivars. pp. 213-224 dans: Talekar N. S. ed., *Diamondback moth and other crucifer pests: Proceedings of the second International Workshop*, Tainan, Taiwan, 11-14 December 1990, Asian Vegetable Research and Development Cente.
- Endler, J.A. (1995).** Multiple-trait coevolution and environmental gradients in guppies. *Trends in ecology & evolution* **10**: 22-29.
- Eslin, P. & Prevost, G. (2000).** Racing against host's immunity defenses: a likely strategy for passive evasion of encapsulation in *Asobara tabida* parasitoids. *J. Ins. Physiol.* **46**:1161-1167.
- Espagne, E., Dupuy, C., Huguet, E., Cattolico, L., Provost, B., Martins, N., Poirie, M., Periquet, G. & Drezen, J.-M. (2004).** Genome sequence of a polydnavirus: insights into symbiotic virus evolution. *Science* **306**: 286-289.

- Facon B., Genton, B.J., Shykoff, J., Jarne, P., Estoup, A. & David, P. (2006).** A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in ecology & evolution* **21**: 130-135.
- Fauvergue, X., Fleury, F., Lemaitre, C. & Allemand, R. (1999).** Parasitoid mating structures when hosts are patchily distributed: field and laboratory experiments with *Leptopilina boulardi* and *L. heterotoma*. *Oikos*, **86**: 344-356.
- Fauvergue, X., Hopper, K.R., Antolin, M.F. & Kazmer, D.J. (1998).** Does time until mating affect progeny sex ratio? A manipulative experiment with the parasitoid wasp *Aphelinus asychis*. *J. Evol. Biol.* **11**: 611-622.
- Fenner, F. (1983).** The Florey lecture 1983 : biological control as exemplified by smallpox eradication and myxomatosis. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B-Biol. Sci.* **218**: 259-285.
- Field, S.A., Calbert, G. & Keller, M.A. (1998).** Patch defence in the parasitoid wasp *Trissolcus basalis* (Insecta: Scelionidae): the time structure of pairwise contests, and the waiting game. *Ethology* **104**: 821-840.
- Fisher R. A. (1930).** *The genetical theory of natural selection*. Clarendon Press, Oxford.
- Fisher, R.C. (1961).** A study in insect multiparasitism II. The mechanism and control of competition for possession of the host. *Journal of Experimental Biology* **38**: 605-628.
- Fitton, M. & Walker, A. (1992).** Hymenopterous parasitoids associated with diamondback moth: The taxonomic dilemma. Diamondback Moth and other Crucifer Pests. dans: Talekar, N. S. ed., *Diamondback moth and other crucifer pests: Proceedings of the Second International Workshop*, 10-14 December, 1990, Tainan, Taiwan., pp. 225-232
- Flanders, S.E. (1965).** On the sexuality and sex ratios of hymenopterous populations. *Am. Nat.* **13**: 489-494.
- Fletcher, J.P., Hughes, J.P. & Harvey, I.F. (1994).** Life expectancy and egg load affect oviposition decisions of a solitary parasitoid. *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **258**: 163-167.
- Fleury, F., Allemand, R., Fouillet, P. & Boulétreau, M. (1995).** Genetic variation in locomotor activity rhythm among populations of *Leptopilina heteroma* (Hymenoptera: Eucoilidae), a larval parasitoid of *Drosophila* species. *Behav. Genet.* **25**: 81-89.
- Foster, S.A. & Endler, J.A. (1999).** *Geographic variation in behavior, perspectives on evolutionary mechanisms*. Oxford University Press, New York.
- Foster, S.A. (1999).** The geography of behavior, an evolutionary perspective. *Trends in ecology & evolution* **14**: 190-194.
- Frank, S.A. (1986).** Hierarchical selection theory and sex ratios. I. General solutions for structured populations. *Theoretical Population Biology* **29**: 312-342.
- Free, C.A., Beddington, J.R. & Lawton, J.H. (1977).** On the inadequacy of simple models of mutual interference for parasitism and predation. *Journal of Animal Ecology* **46**: 543-554.

- Fumanal, B., Martin, J.F., Sobhian, R., Blanchet, A., Bon, M.-C. (2004).** Host range of *Ceutorhynchus assimilis* (Coleoptera: Curculionidae), a candidate for biological control of *Lepidium draba* (Brassicaceae) in the USA. *Biological Control* **30**: 598-607
- Futuyma, D.J., Keese M.C. & Funk D.J. (1995).** Genetic constraints on macroevolution: the evolution of host affiliation in the leaf beetle genus *Ophraella*. *Evolution* **49**: 797-809.
- Gassmann, A. & Louda, S.M. (2000).** Rhinocyllus conicus: initial evaluation and subsequent ecological impacts in North America. pp. 147-183 dans: E. Wajnberg, J.K. Scott and P.C. Quimby eds. *Evaluating indirect ecological effect of biological control*, CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Gavrillets, S. & Boake, C.R.B. (1998).** On the evolution of premating isolation after a founder event. *The American Naturalist* **152**: 706-716
- Giordano, R., O'Neill, S.L. & Robertson, H. M. (1995).** *Wolbachia* infections and the expression of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila sechellia* and *D. mauritiana*. *Genetics* **140**: 1307-1317.
- Giorgini, M. & Baldanza, F. (2004).** Species status of two populations of *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) native to different geographic areas. *Biological Control* **30**: 25-35.
- Godfray, H.C.J. (1987).** The evolution of clutch size in parasitic wasps. *The American Naturalist* **129**: 221–233.
- Godfray, H.C.J. (1994).** *Parasitoids. Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, New Jersey.
- Gottlieb, Y. & Zchori-Fein, E. (2001).** Irreversible thelytokous reproduction in *Muscidifurax uniraptor*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **100**: 271-278.
- Gottlieb, Y., Zchori-Fein, E., Werren, J.H. & Karr, T.L. (2002).** Diploidy restoration in *Wolbachia*-infected *Muscidifurax uniraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Invertebr. Pathol.* **81**: 166-174.
- Goubault, M., Fourrier, J., Krespi, L., Poinsot, D. & Cortesero, A.M. (2003).** Selection strategies of parasitized hosts in a generalist parasitoid depend on patch quality but also on host size. *Journal of Insect Behaviour* **17**: 99–113.
- Goudegnon, A.E., Kirk, A.A., Arvanitakis, L. & Bordat, D., (2004).** Status of the Diamondback moth and *Cotesia plutellae* its main parasitoid in the Cotonou and Porto-Novo periurban areas of Benin. pp. 172-178 dans: Kirk, A. A., Bordat, D. eds. *Improving biocontrol of Plutella xylostella: Proceedings of the International Symposium*, Montpellier, France, 21-24 October 2002.
- Groeters, F.R. & Tabashnik, B.E. (2000).** Roles of selection intensity, major genes, and minor genes in evolution of insecticide resistance. *Journal of Economic Entomology* **93**: 1580-1587.

- Gu, H. & Dorn, S. (2000).** Genetic variation in behavioral response to herbivore-infested plants in the parasitic wasp, *Cotesia glomerata* (L.) (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior* **13:** 141-156.
- Guillemaud T., Pasteur, N. & Rousset, F. (1997).** Contrasting levels of variability between cytoplasmic genomes and incompatibility types in the mosquito *Culex pipiens*. *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **264:** 245-251.
- Guilloux, T. (2000).** Etude de la variabilité biologique, biochimique et génétique des populations d'origines géographiques différents de *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) parasitoïde de la teigne de las brassicacées *Plutella xylostella* (L.).
- Guilloux, T., Monnerat, R., Castelo-Branco, M., Kirk, A., & Bordat D. (2003).** Population dynamics of *Plutella xylostella* (Lep., Yponomeutidae) and its parasitoids in the region of Brasilia. *J. Appl. Entomology* **127:** 288-292.
- Haccou, P., de Vlas, S.J., van Alphen, J.J.M. & Visser, M.E. (1991).** Information processing by foragers: effects on intra-patch experience on the leaving tendency of *Leptopilina heterotoma*. *Journal of Animal Ecology* **60:** 93-106.
- Hall R.W. & Ehler L.E. (1979).** Rate of establishment of natural enemies in classical biological control. *Bull. Entomol. Soc. Am.* **25:** 280-82.
- Hamilton, W.D. (1967).** Extraordinary sex ratios, *Science* **156:** 477-488.
- Hamilton, W.D. (1980).** Sex versus non-sex parasite. *Oikos* **35:** 282-290.
- Hardy, I.C.W. (1994).** Sex ratio and mating structure in the parasitoid Hymenoptera. *Oikos* **69:** 3-20.
- Hardy, I.C.W. & Mayhew, P.J. (1998).** Sex ratio, sexual dimorphism and mating structure in bethylid wasps. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **42:** 383-395.
- Hassell, M.P. & Huffaker, C.B. (1969).** Regulatory processes and population cyclicity in laboratory populations in *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Phycitidae). III. The development of population models. *Researches in Population Ecology* **11,** 186-210.
- Hassel, M.P. (1975).** Density-dependence in single-species populations. *Journal of Animal Ecology* **44:** 283-295.
- Hassel, M. P., Lawton, J. H. & Beddington, J. R. (1976).** The components of arthropod predation. *Journal of Animal Ecology* **45:** 135-164.
- Hassel, M.P. (1978).** *The Dynamics of Arthropod Predator-Prey Systems*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Hassel, M.P. (2000).** *The spatial and temporal dynamics of host-parasitoid interactions*. Oxford University press, 208 p.
- Hawkins, B.A. & Cornell, H.V. (1999).** *Theoretical Approaches to Biological Control*. Cambridge University Press, Cambridge, 424 p.

- Heimpel, G.E., Antolin, M.F., Franqui, R.A. & Strand, M.R. (1997).** Reproductive isolation and genetic variation between two strains of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* **9**: 149-156.
- Heimpel, G.E., Rosenheim, J.A. & Mangel, M. (1996).** Egg limitation, host quality, and dynamic behavior by a parasitoid in the field. *Ecology* **77**: 2410-2420.
- Heimpel, G.E. & Rosenheim, J.A. (1998).** Egg limitation in parasitoids: a review of the evidence and a case study. *Biological Control* **11**: 160-168
- Hemerik, L., Driessen, G. & Haccou, P. (1993).** Effects of intra-patch experiences on patch time, search time and searching efficiency of the parasitoid Leptopilina clavipes. *Journal of Animal Ecology* **62**: 33-44.
- Herre, E.A. (1987).** Optimality, plasticity and selective regime in fig wasp sex ratios, *Science* **329**: 627-629.
- Higashi, M., Takimoto, G. & Yamamura, N. (1999).** Sympatric speciation by sexual selection. *Nature* **402**: 523-526.
- Hochberg, M. & Holt, M.E. (1995).** Refuge evolution and the population dynamics of coupled host-parasitoid interactions. *Evol. Ecol.* **9**: 633-661.
- Hoffmann, A.A., Turelli, M. & Simmons, G.M. (1986).** Unidirectional incompatibility between populations of *Drosophila simulans*. *Evolution* **40**: 692-701.
- Hoffmann, A.A. & Turelli, M. (1988).** Unidirectional incompatibility in *Drosophila simulans*: inheritance, geographic variation and fitness effects. *Genetics* **119**: 435-444.
- Hoffmann, A.A., Clancy, D. & Duncan, J. (1996).** Naturally-occurring *Wolbachia* infection in *Drosophila simulans* that does not cause cytoplasmic incompatibility. *Heredity* **76**: 1-8.
- Hoffmann, A.A., Turelli, M. (1997).** Cytoplasmic incompatibility in insects. pp. 42-80 dans: S. L. O'Neill, Hoffmann, A. A., & Werren J. H. eds. *Influential passengers*. Oxford Univ. Press, New York.
- Holmes, H.B. (1972).** Genetic evidence for fewer progeny and a higher percent males when *Nasonia vitripennis* oviposits in previously parasitized hosts. *Entomophaga* **17**: 79-88.
- Holmgren, N. (1995).** The ideal free distribution of unequal competitors: predictions from a behaviour-based functional response. *Journal of Animal Ecology* **64**: 197-212.
- Holling, C.S. (1959).** Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Canadian Entomologist* **9**: 385-398.
- Holling, C.S. (1959).** The components of predation as revealed by a study of small mammal predation of the European pine sawfly. *Canadian Entomologist* **91**: 293-320.
- Holt, R.D. & Hochberg, M.E. (1997).** When is biological control evolutionarily stable (or is it)? *Ecology* **78**: 1673-1683.

- Holt, R.D., Hochberg, M.E. & Barfield, M. (1999).** Population dynamics and the evolutionary stability of biological control. pp. 219-230 dans: Hawkins B.& Cornell H. eds. *Theoretical Approaches to Biological Control*, Academic Press: New York.
- Hopper K. R., & Roush R. T. (1993)** Mate finding, dispersal, number released, and the success of biological control introductions: *Ecol. Entomol.* **18**: 321–331.
- Hopper, K.R., Roush, R.T., Powell, W. (1993).** Management of genetics of biological control introductions. *Annual Review of Entomology* **38**: 27-51.
- Hopper, K., Britch, S. & Wajnberg, E. (2005).** Risks of interbreeding between species used in biological control and native species and methods for evaluating its occurrence and impact dans: Bigler, F., Kuhlmann U. & Babendreier, D. eds. *Environmental Impact of Invertebrates for Biological Control of Arthropods: Methods and Risk Assessment*, CAB International, in press.
- Howard, D.J. & Gregory, P.G. (1993).** Post-insemination signalling systems and reinforcement: *Proc. R.. Soc. London: B: Biol. Sci.* **340**: 231-236.
- Hoy, M.A. (1994).** Parasitoids and predators in management of arthropod pest. P. 129 dans : *Introduction to Insect Pest Management*. Metcalf, R. L, Luckmann, W. H. eds. John & Sons. New York.
- Hufbauer R.A. & Via S. (1999).** Evolution of an aphid-parasitoid interaction: variation in resistance to parasitism among aphid populations specialized on different plants, *Evolution* **53**: 1435-1445.
- Hufbauer, R.A. (2002).** Evidence for nonadaptive evolution in parasitoid virulence following a biological control introduction. *Ecol. Appl.* **12**: 66-78
- Hufbauer, R.A., Bogdanowicz, S.M. & Harrison, R.G. (2004).** The population genetics of a biological control introduction: mitochondrial DNA and microsatellite variation in native and introduced populations of *Aphidius ervi*, a parasitoid wasp. *Molecular Ecology* **13**: 337-348.
- Hufbauer, R.A. & Roderick, G.K. (2005).** Microevolution in biological control: Mechanisms, patterns, and processes. *Biological Control* **35**: 227-239.
- Hunter, M.S. (1999).** Genetic conflict in natural enemies: A review, and consequences for the biological control of arthropods. pp. 231-258. dans: Hawkins B.A. & Cornell H.V. eds. *Theoretical approaches to biological control*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hurst, G.D.D., & Majerus, M.E.N. (1993).** Why do maternally inherited microorganisms kill males?. *Heredity*. **71**:81-95.
- Hurst G.D.D. & Schilthuizen, M. (1998).** Selfish genetic elements and speciation, *Heredity* **80**: 2-8.
- Hurst, G.D.D & Jiggins, F.M. (2000).** Male-killing bacteria in insects: mechanisms, incidence and implications. *Emerging Infectious Diseases* **6**: 329-336.

- Jacob, H.S. & Evans, E.W. (2000).** Influence of carbohydrate foods and mating on longevity of the parasitoid *Bathyplectes curculionis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Environmental Entomology* **29**: 1088-1095.
- Jiggins, F.M., Hurst, G.D.D. & Majerus M.E.N. (2000a).** Sex-ratio-distorting *Wolbachia* causes sex-role reversal in its butterfly host. *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **267**: 69-73.
- Jiggins, F.M., Hurst, G.D.D., Dolman, C.E. & Majerus, M.E.N (2000b).** High prevalence male-killing *Wolbachia* in the butterfly *Acraea encedana*. *J. Evol. Biol.* **13**: 495-501.
- Jiggins, F. M., Randerson, J. P., Hurst, G.D.D. & Majerus, M.E.N. (2002).** How can sex ratio distorters reach extreme prevalences? Male-killing *Wolbachia* are not suppressed and have near-perfect vertical transmission efficiency in *Acraea encedon*. *Evolution* **56**: 2290-2295.
- Johnson, J. B. & Omland, K. S. (2004).** Model selection in ecology and evolution. *Trends in ecology & evolution* **19**: 101-108.
- Joshi, A. & Thompson, J.N. (1996).** Evolution of broad and specific competitive ability in novel versus familiar environments in *Drosophila* species. *Evolution* **50**: 188-194.
- Kalyebi, A., Overholt, W.A., Schulthess, F., Mueke, J.M., Hassan, S.A. & Sithanantham S., (2005).** Functional response of six indigenous trichogrammatid egg parasitoids (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Kenya: influence of temperature and relative humidity. *Biological Control* **32**: 164-171
- Kawaguchi, M. & Tanaka, T. (1999).** Biological characteristics of a larval endoparasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera : Braconidae): host stage preference, subsequent sex-ratio of progeny and mate location of males. *Applied Entomology and Zoology* **34**: 213-221.
- Keane, R.M. & Crawley, M.J. (2002).** Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis, *Trends in ecology & evolution* **17**: 164-170.
- Keller, G.P., Windsor, D.M., Saucedo, J. & Werren, J.H. (2004).** Reproductive effects and geographical distribution of two *Wolbachia* strains infecting the Neotropical beetle, *Chelymorpha alternans* (Chrysomelidae, Cassidinae). *Molecular Ecology* **13**: 2405-2420.
- Kester, K. & Barbosa, P. (1994).** Behavioural responses to host food plants of two populations of the insect parasitoid *Cotesia congregata* (Say). *Oecologia* **99**: 151-157.
- Kfir, R. (1997).** Parasitoids of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) in South Africa: an annotated list. *Entomophaga* **42**: 517-523.
- Kfir, R. (1998).** Origin of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Annals of the Entomological Society of America* **91**: 164-167.
- Khan, Z.R., Ampong-Nyarko, K, Chiliswa, P., Hassanali, A. Kimani, S., Lwande, W., Overholt, W. A., Picketta, J. A., Smart, L. E., Woodcock, C. M. (1997).** Intercropping increases parasitism of pests. *Nature* **388**: 631-632.
- Kitano, H. & Nakatsuji, N. (1978).** Resistance of *Apanteles* eggs to the haemocytic encapsulation by their habitual host *Pieris*. *J. Insect Physiol.* **24**: 261-271.

- Klinken, R.D. van, Fichera, G., Cordo, H. (2003).** Targeting biological control across diverse landscapes: the release, establishment, and early success of two insects on mesquite (*Prosopis spp.*)insects in Australian rangelands. *Biological Control* **26**: 8-20.
- Klomp, H. & Teerink, B.J. (1962).** Host selection and number of eggs per oviposition in the egg-parasite *Trichogramma embryophagum* Htg. *Nature* **13**: 1020-1021.
- Kniskern, J. & Rausher, M.D. (2001).** Two modes of host-enemy coevolution. *Population Ecology* **43**: 3-14.
- Knowles, L.L., Hernandez, B.B. & Markow, T. A. (2004).** Exploring the consequences of postmating-prezygotic interactions between the sexes. *Proc. Roy. Soc. London: Series B: Biol. Sci.* **271**: 357-359.
- Kondrashov, A.S. & Shpak, M. (1998).** On the origin of species by means of assortative mating. *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **265**: 2273-2278.
- Kopf, A., Rank, N.E., Roininen, R., Julkunen-Tiitto, R., Pasteels, J. M. & Tahvanainen, J. (1998).** The evolution of host-plant use and sequestration in the leaf beetle genus *Phratora* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Evolution* **52**: 517-528.
- Kraaijeveld, A.R. & Alphen van, J.J.M. (1994).** Geographic variation in resistance of the parasitoid *Asobara tabida* against encapsulation ability of *Drosophila melanogaster* larvae: the mechanism explored. *Physiological Ecology* **19**: 9-14.
- Kraaijeveld, A.R & Alphen van, J.J.M. (1995).** Geographic variation in encapsulation ability of *Drosophila melanogaster* and evidence for a parasitoid-specific component. *Evolutionary Ecology* **9**: 10-17.
- Krebs, J.R. & Davies, N.B. (1984).** *Behavioural Ecology: an evolutionary approach*. Blackwell Science, Cambridge.
- Lactin, D.J., Harris, P., Johnson, D.L., Wan, F.H. & Thomas, A.G. (1997).** Modelling and mapping geographic ranges to evaluate weed biocontrol agents: a case study using *Altica carduorum* (Coleoptera : Chrysomelidae)and *Cirsium arvense* (Asteraceae). *Biocontrol Science and Technology* **7**: 657-670.
- Lane, S.D., Mills, N.J. & Getz, W.M. (1999).** The effects of parasitoid fecundity and host taxon on the biological control of insect pests: the relationship between theory and data. *Ecological Entomology* **24**: 181–190.
- Lane, R. (1977).** The species concept in blood-sucking vectors of human diseases. pp. 273-289 dans: Claridge, M. F., Dawah, H. A., Wilson, M. R. eds. *Species, the Units of Biodiversity*. Chapman & Hall, London.
- Lawrence, P.O. (1981).** Host vibration. A cue to host location by the parasite *Biosteres longicaudatus*. *Oecologia* **48**: 249-251.

- Lemasurier, A.D., Waage, J.K. (1993).** A comparison of attack rates in a native and an introduced population of the parasitoid *Cotesia glomerata*. *Biocontrol Science and Technology* **3**: 467-474.
- Lenteren, J.C. van (1991).** Encounters with parasitized hosts: to leave or not to leave patch. *Netherlands Journal of Zoology* **41**: 144-157.
- Lenteren, J.C. van (2000).** A greenhouse without pesticides: fact of fantasy? *Crop Protection* **g**: 375-384.
- Lenteren, J.C. van (2003).** Need of quality control of mass-produced biological control agents. pp. 167-179 dans: *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. Lenteren, van J.C. ed., CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Lenteren, J.C. van, Bale, J., Bigler, F., Hokkanen, H.M.T. & Loomans, A.J.M. (2006).** Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. *Annual Review of Entomology* **51**: 609-634.
- Levin, S.A. (1970).** Community equilibria and stability, and an extension of the competitive exclusion principle. *The American Naturalist* **104**: 413-423.
- Lewis, W.J., Vet, L.E.M., Tumlinson, J.H., Van Lenteren, J.C., & Papaj, D.R. (1990).** Variations in Parasitoid Foraging Behavior: Essential Element of a Sound Biological Control Theory. *Environmental Entomology* **19**: 1183-1193.
- Lim, G.S. (1986).** Biological control of diamondback moth. pp. 159-171 dans: Talekar N. S. ed., *Diamondback moth Management: Proceedings of the first International Workshop*, Tainan, Taiwan, 11-15 March 1985, Asian Vegetable Research and Development Center.
- Lim, G.S. (1992).** Integrated pest management of diamondback moth: practical realities. dans: Talekar, N.S. ed., *Diamondback moth and other crucifer pests: Proceedings of the second International Workshop*, Tainan, Taiwan, 10-14 December 1990.
- Lim, U.T. & Hoy, M.A. (2005).** Biological assessment in quarantine of *Semielacher petiolatus* (Hymenoptera: Eulophidae) as a potential classical biological control agent of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), in Florida. *Biological Control* **33**: 87-95.
- Lindholm, A., Breden, F., Alexander, H.J., Woon-Khiong, C., Sumita, G.T. & Brooks, R. (2005).** Invasion success and genetic diversity of introduced populations of guppies *Poecilia reticulata* in Australia, *Molecular Ecology* **14**: 3671-3682.
- Lipa, J.J., Santiago-Alvarez C., Papp, J., Adelbis, H.K., Vargas-Osuna, E. & Caballero, P. (1993).** *Ocnogyna baetica* (Rambur) (Lepidoptera : Arctiidae) as winter host for *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) and *Glyptapantelas compressiventris*.
- Louda, S.M., Pemberton, R. W., Johnson, M.T. & Follett, P. A. (2003).** Nontarget effects - the Achilles' heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol introductions. *Annual Review of Entomology* **48**: 365-396

- Luckmann, W.H. & Metcalf, R.L. (1994).** The pest management concept. pp. 129 dans : Metcalf R.L, Luckmann W.H. eds. *Introduction to Insect Pest Management*. John & Sons. New York.
- Lynch, L.D, Hokkanen, H.M.T., Babendreier, D., Bigler, F. & Burgio, G. (2001).** Insect biological control and non-target effects: a European perspective. Dans : Wajnberg E, Scott JK, Quimby PC. *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*. Wallingford, Oxon, UK: CABI.261 pp.
- Mackauer, M. (1976).** Genetic problems in the production of biological control agents. *Annual Review of Entomology* **21**: 369-85.
- Mackauer, M. & Chau, A. (2001).** Adaptive self superparasitism in a solitary parasitoid wasp: the influence of clutch size on offspring size. *Functional Ecology* **15**: 335–343.
- Maddison, D.R. & Maddison, W.P. (2001).** *MacClade: Analysis of phylogeny and character evolution*. Version 4.02. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Maddison, D.R. & Maddison, W.P. (2002).** *MacClade Version 4.05*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Maia, A.D.H.N., Luiz, A.J.B. & Campanhola, C. (2000).** Statistical Inference on Associated Fertility Life Parameters Using Jackknife Technique: Computational Aspects. *Journal of Economic Entomology* **93**: 511-518.
- Mangel, M. (1989).** Evolution of host selection in parasitoids: does the state of the parasitoid matter? *The American Naturalist* **133**: 688–705.
- Markow, T.A. (1997).** Assortative fertilization in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **94**: 7756-7760.
- Marris, G.C. & Casperd, J. (1996).** The relationship between conspecific superparasitism and the outcome of in vitro contests staged between different larval instars of the solitary endoparasitoid *Venturia canescens*. *Behavioural Ecology and Sociobiology* **39**: 61-69.
- Matadha, D., Hamilton, G.C., Lashomb, J.H. & Zhang, J. (2005).** Ovipositional preferences and functional response of parasitoids of euonymus scale, *Unaspis euonymi* (Comstock) and San Jose scale, *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock) (Homoptera: Diaspididae). *Biological Control* **32**: 337-347
- Maynard-Smith, J. (1978).** *The Evolution of Sex*. Cambridge University Press.
- Mayr, E. (1942).** *Systematics and the Origin of Species*. Columbia University Press.
- McClay, A.S. & Hughes, R.B. (1995).** Effects of temperature on developmental rate, distribution, and establishment of *Calaphasia lunula* (Lepidoptera: Noctuidae), a biocontrol agent for toadflax (*Linaria* spp.). *Biological Control* **5**: 368-377.
- McGaughey, W.H. & Whalon, M.E. (1992).** Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Science* **258**: 1451-1455.
- Meunier, J. & Bernstein, C. (2001).** The influence of local mate competition on host-parasitoid dynamics. *Ecological Modelling* **152**: 77-88.

- Merçot, H., Llorente, B., Jacques, M., Atlan, A. & Montchamp-Moreau, C. (1995).** Variability within the Seychelles cytoplasmic incompatibility system in *Drosophila simulans*, *Genetics* **141**: 1015-1023.
- Mills, N.J. & Gutierrez, A.P. (1999).** Biological control of insect pests: a tritrophic perspective. pp. 219-230 dans: Hawkins B.& Cornell H. eds. *Theoretical Approaches to Biological Control*, Academic Press: New York.
- Mitsunaga, T., Shimoda, T. & Yano, E. (2004).** Influence of food supply on longevity and parasitization ability of a larval endoparasitoid, *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae). *Applied Entomology and Zoology* **39**: 691-697.
- Mochiah, M.B., Ngi-Song A.J., Overholt, W.A. & Botchey, M. (2001).** Host suitability of four cereal stemborers (Lepidoptera: Crambidae, Noctuidae) for different geographic populations of *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) in Kenya ? *Biological Control* **21**: 285-292.
- Mochiah, M.B., Ngi-Song, A.J., Overholt, W.A. & Stouthamer, R. (2002).** *Wolbachia* infection in *Cotesia sesamiae* (Hymenoptera: Braconidae) causes cytoplasmic incompatibility: implications for biological control. *Bioogical Control* **25**: 74-80.
- Monnerat, R. G. (1995).** Interrelations entre la Teigne des Crucifères *Plutella xylostella* (L.) (Lep: Yponomeutidae), son parasitoïde *Diadegma* sp. (Hym: Ichneumonidae) et la bactérie entomopathogène *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Thèse de doctorat*. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier. 162 pp.
- Montserrat, M., Albajes, R. & Castañé, C. (2004).** Behavioral responses of three plant-inhabiting predators to different prey densities. *Biological Control* **30**, 256-264
- Nagelkerke, C.J. & Hardy, I.C.W. (1994).** The influence of developmental mortality on optimal sex allocation under local mate competition. *Behavioral Ecology* **13**: 401-411.
- Nakahara, L.M., McHugh, J.J., Otsuka, C. K., Funasaki, G. Y. & Lai, P. V. (1986).** Integrated control of diamondback moth and other insect pests using an overhead sprinkler system, an insecticide, and biological control agents, on a watercress farm in Hawaii. pp. 403-413 dans: Talekar N. S. ed., *Diamondback moth Management: Proceedings of the first International Workshop, Tainan*, Taiwan, 11-15 March 1985, Asian Vegetable Research and Development Center.
- Nicholson, A.J & Bailey, V.A. (1935).** The balance of animal populations. *Proceedings of the Zoological Society of London* **1**: 551-598.
- Ngi-Song, A.J., Mochiah, M.B. (2001).** Polymorphism for *Wolbachia* infections in East African *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). *Insect Sci. Appl.* **21**: 369-374.
- Noda, H., Miyoshi, T., Zhang, Q., Watanabe, K., Deng, K. & Hoshizaki, S. (2001).** *Wolbachia* infection shared among planthoppers (Homoptera: Delphacidae) and their endoparasite

- (Strepsiptera: Elenchidae): a probable case of interspecies transmission. *Molecular Ecology* **10**: 2101-2106.
- Noor, M.A.F. (1999).** Reinforcement and other consequences of sympatry. *Heredity* **83**: 503-508.
- Nouhuys Van, S. & Via, S. (1999).** Natural selection and genetic differentiation of behaviors between parasitoids from wild and cultivated habitats. *Heredity* **83**: 127-137.
- Nowierski, R.M. & Fitzgerald, B.C., (2002).** Supercooling capacity of Eurasian and North American populations of parasitoids of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia*. *Biocontrol* **47**: 279-292.
- Oaten, A. & Murdoch, W.W. (1975).** Functional response and stability in predator-prey systems. *The American Naturalist* **109**: 289-298.
- O'Neill, S.L., Hoffmann, A.A. & Werren, J.H. (1997).** *Influential Passangers Inherited Microorganisms and Arthropod Reproduction*, Oxford University Press, Oxford.
- Outreman, Y., Le Ralec, A., Plantegenest, M., Chaubet, B. & Pierre, J.S. (2001).** Superparasitism limitation in an aphid parasitoid: cornicle secretion avoidance and host discrimination ability. *J. Insect Physiol.* **27**: 339-348.
- Pak, G.A. & van Lenteren, J.C. (1988).** Criteria and methods for the pre-release evaluation of different *Trichogramma* spp. strains pp. 433-442 dans: Voegle, J., Waage, J., van Lenteren, J.C. eds. *Trichogramma and other egg parasitoids, Proceedings of 2nd International Symposium on Trichogramma*, Guangzhou, PR China. Les colloques de l'INRA, Paris: 43.
- Palumbi, S.R. (1999).** All males are not created equal: fertility differences depend on gamete recognition polymorphisms in sea urchins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **96**: 12632-12637.
- Pannebakker, B.A., Zwaan, B.J., Beukeboom, L.W. & Van Alphen, J.J.M. (2004).** Genetic diversity and *Wolbachia* infection of the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina clavipes* in western Europe. *Molecular Ecology* **13**: 1119-1128.
- Perrot-Minnot, M.-J., Guo, L.R. & Werren, J.H. (1996).** Single and double infections of *Wolbachia* in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis* effects on compatibility, *Genetics* **143**: 961-972.
- Pichon, A. (2004).** Différences morphologiques, biologiques et génétiques entre plusieurs populations d'origines géographiques différentes de *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Plutellidae). *Thèse de doctorat*. Université Paul Sabatier, Toulouse, France. 169 p.
- Pijls J.W.A.M., Vansteenbergen J.J. & Vanalphen J.J.M. (1996).** Asexuality cured: the relations and differences between sexual and asexual *Apoanagyrus diversicornis*. *Heredity* **76**: 506-513.
- Plantegenest, M., Outreman, Y., Goubault, M. & Wajnberg, E. (2004).** Parasitoids flip a coin before deciding to superparasitize. *Journal of Animal Ecology* **73** : 802-806.
- Pinto, J.D., Platner, G.R. & Stouthamer, R. (2003).** The systematics of the *Trichogramma minutum* species complex (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a group of important North American

biological control agents: the evidence from reproductive compatibility and allozymes
Biological Control **27**: 167-180.

Poinsot, D. & Merçot, H. (1997). *Wolbachia* infection in *Drosophila simulans*: does the female host bear a physiological cost. *Evolution* **51**: 180-186.

Polaszek, A. (1998). *African Cereal Stem Borers: Economic Importance, Taxonomy, Natural Enemies and Control*. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K. 530 p.

Pompanon, F., Fouillet, P. & Boulétreau, M. (1999). Physiological and genetic factors as sources of variation in locomotion and activity rhythm in a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*). *Physiological Entomology* **24**: 346-357.

Posada, D. & Crandall, K. A. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 917-818.

Prevost, G. & Lewis, W.J. (1990). Heritable differences in the response of the braconid wasp *Microplitis croceipes* to volatile allelochemicals. *J. Insect. Behav.* **3**: 277-287.

Price, P.W. (1970). Trail odors: recognition by insects parasitic on cocoons. *Science* **170**: 546-547.

Price, P.W. (1980). *Evolutionary biology of parasites. Monographs in Population Biology No. 15*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 237 p.

Price, C.S.C., Kim, C.H., Gronlund, C.J. & Coyne, J.A. (2001). Cryptic reproductive isolation in the *Drosophila simulans* complex. *Evolution*, **55**: 81-92.

Provost B., Varricchio P., Arana E., Espagne E., Falabella P., Huguet E., La Scaleia R., Cattolico L., Poirié M., Malva C., Olszewski J.A., Pennacchio F., & Drezen J.M. (2004). Bracoviruses Contain a Large Multigene Family Coding for Protein Tyrosine Phosphatases. *Journal of Virology*. **78**: 13090-13103.

Rathman, R.J., Johnson, M.W., Tabashnik, B.E. & Spollen, K.M., (1995). Variation in susceptibility to insecticides in the leafminer parasitoid *Ganaspidium utilis* (Hymenoptera, Eucoilidae). *J. Econ. Entomol.* **88**: 475-479.

Reddy, G.V.P., & Urs, K.C.D. (1997). Mass trapping of diamondback moth *Plutella xylostella* in cabbage fields using synthetic sex pheromones. *Int. Pest Control.* **39**: 125-126.

Reece S.E., Shuker, D.M., Pen, I., Duncan, A.B., Choudhary, A., Batchelor, C.M. & West, S.A. (2004). Kin discrimination and sex ratios in a parasitoid wasp. *J. Evol. Biol.* **17**: 208-216.

Riechert, S. E. (1999). Using behavioral ecotypes to study evolutionary processes. pp. 3-32 dans: S. Foster & J. Endler eds. *Geographic variation in behavior: Perspectives on evolutionary mechanisms*. Oxford Univ. Press. 314 p.

Rice, W.R. & Hostert, E.E. (1993). Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years?. *Evolution* **47**: 1637-1653.

Rincon, C., Bordat, D., Löhr, B. & Dupas, S. (2006). Reproductive isolation and differentiation between five populations of *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Biological Control* **36**: 171-182.

- Rigaud, T. (1997).** Inherited microorganisms and sex determination of arthropod hosts. pp. 81-101 dans: O'Neill S.L., Werren J.H. & Hoffmann A.A. eds. *Influential passengers*, Oxford University Press, New York.
- Roderick, G.K. (1996).** Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography and their uses. *Annual Review of Entomology* **41**: 325-352.
- Roderick, G.K. & Navajas, M. (2003).** Genotypes in novel environments: genetics and evolution in biological control. *Nature Reviews Genetics* **4**, 889-899.
- Rogers, D. (1972).** Random search and insect population models. *Journal of Animal Ecology* **41**: 369-383.
- Rogers, D.J. & Hassell, M.P. (1974).** General models for insect parasite and predator searching behaviour: interference. *Journal of Animal Ecology* **43**: 239-253.
- Rosenheim, J.A. (1999).** The relative contributions of time and eggs to the cost of reproduction. *Evolution* **53**: 376-385.
- Rousset, F., Raymond, M. & Kjellberg, F. (1991).** Cytoplasmic incompatibilities in the mosquito *Culex pipiens*: How to explain a cytotype polymorphism? *J. Evol. Biol.* **4**: 69-81.
- Rousset, F., Bouchon, D., Pintureau, B., Juchault, P. & Solignac, M. (1992).** *Wolbachia* endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **250**: 91-98.
- Rousset, F. & Solignac, M. (1995).** Evolution of single and double *Wolbachia* symbioses during speciation in the *Drosophila simulans* complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **92**: 6389-6393.
- Salt, G. (1961).** Competition among insect parasitoids. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **15**: 96-119.
- Salt, G. (1968).** The resistance of insect parasitoid to the defense of their hosts. *Biol. Rev.* **43**: 200-232.
- Sanchis, V., Chaufaux, J. & Lereclus, D. (1995).** Utilisation de *Bacillus thuringiensis* en protection des cultures et résistance des insectes. *Cahiers Agricultures* **4**: 405-416.
- Schlichting, C.D. & Pigliucci, M. (1995).** Gene regulation, quantitative genetics and evolution of reaction norms. *Evolutionary Ecology* **9**: 154-168.
- Schlüter, D. (2001).** Ecology and the origin of species. *Trends in ecology & evolution*. **16** 391-399.
- Scott, J.K., (1992).** Biology and climatic requirements of *Perapion antiquum* (Coleoptera, Apionidae) in Southern Africa: implications for the biological control of *Emex* spp. Australia. *Bulletin of Entomological Research*. **82**: 399-406.
- Servedio, M, R. (2001).** Beyond reinforcement: the evolution of premating isolation by direct selection on preferences and postmating, prezygotic incompatibilities. *Evolution* **55**: 1909-1920.
- Shelby, K. & Webb, B.A. (1999).** Polydnavirus-mediated suppression of insect immunity. *J. Insect Physiol.* **45**: 507-514.

- Shelton, A.M., Wyman, J.A., Cushing, N.L., Apfelbeck, K., Dennehy, T.J., Mahr, S. E. R. & Eigenbrode, S. D. (1993).** Insecticide resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in North America. *Journal of Economic Entomology* **86**: 11-19.
- Shiojiri, K., Takabayashi, J., Yano, S., Takafuji, A. (2000).** Flight response of parasitoids toward plant-herbivore complexes: a comparative study of two parasitoid-herbivore systems on cabbage plants. *Appl. Entomol. Zool.* **35**: 87-92.
- Shoemaker, D.D., Katju, V., Jaenike, J. (1999).** *Wolbachia* and the evolution of reproductive isolation between *Drosophila recens* and *Drosophila subquadrata*. *Evolution* **53**: 1157-1164.
- Simberloff, D. & Stiling, P. (1996).** How risky is biological control? *Ecology* **77**: 1965-1974.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Flook, P. (1994).** Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **87**: 651-701.
- Sirot, E. (1996).** The pay-off from superparasitism in the solitary parasitoid *Venturia canescens*. *Ecological Entomology* **21**: 305-307.
- Sirot, E., Ploye, H., & Bernstein, C. (1997).** State dependent superparasitism in a solitary parasitoid: Egg load and survival. *Behavioral Ecology* **8**: 226-232.
- Sirot, E. & Krivan, V. (1997).** Adaptative superparasitism and host-parasitoid dynamics. *Bull. Math. Biol.* **59**: 23-41.
- Smith, S.M. (1996).** Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes, and potential of their use. *Annual Review of Entomology* **41**: 375-406.
- Solomon, M. E. (1949).** The natural control of animal populations. *Journal of Animal Ecology* **18**: 1-35.
- Southwood, T.R.E. (1978).** *Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations*. Chapman and Hall, London, 524p.
- Stephens, P.A. & Sutherland, W.J. (1999).** Consequences of the Allee effect for behaviour, ecology and conservation. *Trends in ecology & evolution* **14**: 401-405.
- Stephens, P.A., Sutherland, W.J. & Freckleton, R.P. (1999).** What is the Allee effect? *Oikos* **87**, 185-190.
- Stiling, P., Cornelissen, T. (2005).** What makes a successful biocontrol agent? A meta-analysis of biological control agent performance. *Biological Control* **34**: 236-246.
- Stillman, R.A., Goss-Custard, J.D. & Caldow, W.G. (1997).** Modelling interference from basic foraging behaviour. *Journal of Animal Ecology* **66**: 692-703.
- Stoker, A. & Dutta, R. (1998).** Protein tyrosine phosphatases and neural development. *BioEssays* **20**: 463-72
- Stoltz, D.B. (1993).** The polydnavirus life cycle. pp. 167-187 dans: Beckage, N.E., Thompson, S.N. and Federici, B.A. eds. *Parasites and Pathogens of Insects* vol. 1, Academic Press, New York.

- Stouthamer, R., Luck, R.F. & Hamilton, W.D. (1990).** Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* (Hymenoptera/Trichogrammatidae) to revert to sex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **87:** 2424-2427.
- Stouthamer, R. & Kazmer, D.J. (1994).** Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. *Heredity* **73:** 317-327.
- Stouthamer R., Breeuwer J.A. & Hurst, G.D. (1999).** *Wolbachia pipiensis*: microbial manipulator of arthropod reproduction. *Ann. Rev. Microbiol.* **53:** 71-102.
- Stouthamer, R., Jochemsen, P., Platner, G.R. Pinto, J.D. (2000).** Crossing incompatibility between *Trichogramma minutum* and *T. platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): implications for applications in biological control. *Environmental Entomology* **29,** 832-837.
- Sutherland W.J. (1996).** *From individual behaviour to population ecology*. Oxford University Press, Oxford.
- Tabashnik B. E., Cushing N. L., Finson N., Johnson M. W. (1990).** Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* **83:** 1671-1676.
- Tabashnik, B. E., Liu, Y. B., Finson, N., Masson, L., Heckels, D. G. (1997).** One gene in diamondback moth confers resistance to four *Bacillus thuringiensis* toxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **94:** 1640-1644.
- Talekar, N. S., Lee, S. T., Huang, S. W. (1986).** Intercropping and modification of irrigation method for the control of diamondback moth. pp. 145-151 dans: Talekar N. S. ed., *Diamondback moth Management: Proceedings of the first International Workshop*, Tainan, Taiwan, 11-15 March 1985, Asian Vegetable Research and Development Center.
- Talekar, N.S. & Shelton, A.M. (1993).** Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annual Review of Entomology* **38:** 275-301.
- Talekar, N.S. (2004).** Biological Control of diamondback in Asia. pp. 103-113 dans: Kirk, A. A., Bordat, D. eds. *Improving biocontrol of *Plutella xylostella*: Proceedings of the International Symposium*, Montpellier, France, 21-24 October 2002.
- Tamura, K. & Nei, M. (1993).** Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Bio. Evol.* **10:** 512-526.
- Taylor, P.D. & Bulmer, M.G. (1980).** Local mate competition and the sex ratio. *J. Theor. Biol.* **86:** 409-419.
- Tavare, S. (1986).** Some probabilistic and statistical problems on the analysis of DNA sequences. *Lect. Math. Life Sci.* **17:** 57-86.
- Telschow, A., Hammerstein, P., Werren, J.H. (2002).** Effects of *Wolbachia* on genetic divergence between populations models with two way migration, *American Naturalist* **160:** S54-S66.

- Telschow, A., Yamamura, N. & Werren, J. H. (2005).** Bidirectional cytoplasmic incompatibility and the stable coexistence of two *Wolbachia* strains in parapatric host populations. *J. Theor. Biol.* **235**: 265-274.
- Templeton A.R. (1989).** The meaning of species and speciation: a genetic perspective. pp. 3-27 dans: D. Otte and J.A. Endler, Editors, *Speciation and its Consequences*, Sinauer.
- Templeton, A. R. (1998).** Species and speciation. Geography, population structure, ecology, and gene trees. pp. 32-43 dans: Howard, D. J., Berlocher, S. H. eds. *Endless Forms. Species and Speciation*. Oxford Univ. Press, New York.
- The R development core team (2003).** *R a programming environment for data analysis and graphics, version 1.7.1.*
- Thompson, J.N. (1994).** *The Coevolutionary Process*. Chicago, University of Chicago Press.
- Thompson, J.N. (1997).** Evaluating the dynamics of coevolution among geographically structured populations. *Ecology* **78**: 1619-1623.
- Thompson, J.N. (1999).** Specific hypotheses on the geographic mosaic of coevolution. *The American Naturalist* **153**: S1-S14.
- Thompson, J.N. & Cunningham, B.M. (2002).** Geographic structure and dynamics of coevolutionary selection. *Nature* **417**: 735-738.
- Thompson, J.N. (2005).** *The Geographic Mosaic of Coevolution*. Chicago, University of Chicago Press.
- Thomson, L.J. & Hoffmann A. A. (2002).** Laboratory fecundity as predictor of field success in *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology* **95**: 912-917
- Turelli, M., Hoffmann, A.A., McKechnie, S.W. (1992).** Dynamics of cytoplasmic incompatibility and mtDNA variation in natural *Drosophila simulans* populations. *Genetics* **132**: 713-723.
- Turelli, M. & Hoffmann, A.A. (1995).** Cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*: dynamics and parameter estimates from natural populations. *Genetics* **140**: 1319-38.
- Turelli, M., Barton, N.H., Coyne, J.A. (2001).** Theory and speciation. *Trends in ecology & evolution* **16**: 330-343.
- Turnbull, M.W., Webb, B.A. (2002).** Perspectives on polydnavirus origins and evolution. *Advances in Virus Research* **58**: 203-254.
- Vala, F., Egas, M., Breeuwer, J.A.J. & Sabelis, M.W. (2004).** *Wolbachia* affects oviposition and mating behaviour of its spider mite host. *J. Evol. Biol.* **17**: 692-700.
- Valen Van, L.M. (1973).** A new evolutionary law. *Evol. Theor.* **1**: 1-30.
- Varaldi, J., Fouillet, P., Ravallec, M., Lopez-Ferber, M., Boulétreau, M. & Fleury, F. (2003).** Infectious behavior in a parasitoid. *Science* **302**: 1930.
- Vavre, F., Girin, C. & Boulétreau, M. (1999).** Phylogenetic status of a fecundity-enhancing *Wolbachia* that does not induce thelytoky in *Trichogramma*. *Insect Mol. Biol.* **8**: 67-72.

- Vavre, F., Dedeine, F., Quillon, M., Fouillet, P., Fleury, F., Bouletreau, M. (2001).** Within-species diversity of *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility in haplodiploid insects. *Evolution* **55**: 1710-1714.
- Vavre, F., Fleury, F., Varaldi, J., Fouillet, P., Boulétreau, M. (2002).** Infection polymorphism and cytoplasmic incompatibility in Hymenoptera-*Wolbachia* associations. *Heredity* **88**, 361-365.
- Via, S. (2001).** Sympatric speciation in animals: the ugly duckling grows up. *Trends in ecology & evolution* **16**: 381-390.
- Verkerk, R.H.J., Wright, D.J. (1996).** Multitrophic interactions and management of the diamondback moth: a review. *Bull. Ent. Res.* **86**: 205-216.
- Vickerman, D. B., Hoddle, M. S., Serguei, T., Stouthamer, R. (2004).** species identity of geographically distinct populations of the glassy-winged sharpshooter parasitoid *Gonatocerus ashmeadi*: morphology, DNA sequences, and reproductive compatibility. *Biological Control* **31**: 338-345
- Vinson, S.B. (1990).** How parasitoids deal with the immune system of their host: an overview. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* **13**: 2-27.
- Visser, M.E. & Driessen, G. (1991).** Indirect mutual interference in parasitoids. *Netherlands Journal of Zoology* **41**: 214-227.
- Visser, M.E., Luyckx, B., Nell, H.W. & Boskamp, G.J.F. (1992a)** Adaptive superparasitism in solitary parasitoids: marking of parasitized hosts in relation to the pay-off from superparasitism. *Ecological Entomology* **17**: 76–82.
- Visser, M.E., van Alphen, J.J. & Hemerik, L. (1992b).** Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: an ESS model. *Journal of Animal Ecology* **61**: 93–101.
- Visser, M.E. (1993).** Adaptive self- and conspecific superparasitism in the solitary parasitoid *Leptopilina heterotoma* (Hymenoptera: Eucoilidae). *Behav. Ecol.* **4**: 22–28.
- Visser, M.E., Jones, T.H. & Driessen, G. (1999).** Interference among insect parasitoids: a multi-patch experiment. *Journal of Animal Ecology* **68**: 108-120.
- Vitousek, P. M., D'Antonio, C. M., Loope, L. L., & Westbrooks, R. (1996).** Biological Invasions as global environmental change. *American Scientist* **84**:468-478.
- Volterra, V. (1926).** Fluctuations in the abundance of a species considered mathematically. *Nature* **118**: 558-560.
- Waage, J.K. (1979).** Foraging for patchily-distributed hosts by the parasitoid, *Nemeritis canescens*. *J. Journal of Animal Ecology* **48**: 353-371.
- Waage, J.K. (1986).** Family planning in parasitoids: adaptive patterns of progeny and sex allocation. pp. 63-96. dans: J. Waage & D. Greathead (eds). *Insect Parasitoids* Academic Press, London.
- Waage, J.K. (2001).** Indirect ecological effects of biological control: the challenge and the opportunity. pp. 1-12 in Wajnberg, E., Scott, J. K. & Quimby, P. C. eds. *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.

- Wajnberg, E., Rosi, M.C. & Colazza, S. (1999).** Genetic variation in patch time allocation in a parasitic wasp. *Journal of Animal Ecology* **68**: 121-133.
- Wajnberg, E., Scott, J.K. & Quimby, P.C., (2000).** Evaluating indirect ecological effect of biological control, CABI Publishing, Wallingford, UK 288 pp.
- Wajnberg, E. & Colazza, S. (1998).** Genetic variability in the area searched by a parasitic wasp: analysis from automatic video tracking of the walking path. *J. Insect Physiol.*, **44**: 437 444.
- Wajnberg, E., Curty, C. & Colazza, S. (2004).** Genetic variation in the mechanisms of direct mutual interference in a parasitic wasp: consequences in terms of patch-time allocation. *Journal of Animal Ecology* **73**: 1179-1189.
- Wakano, J.Y. (2005).** Evolution of extraordinary female-biased sex ratios: The optimal schedule of sex ratio in local mate competition *J. Theor. Biol.* **237**: 193-202.
- Waladde, S.M., Villet, M.H. & Leutle, M.F. (1999).** Parasitism on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae): observations in the Eastern Cape Province, South Africa. p. 135 dans: van Rensburg J. B. J., van den Berg J. eds. *Proceedings of the twelfth Entomological Congress*, Potchefstroom, 12-15 July 1999, Entomological Society of Southern Africa.
- Wang, X.G. & Keller, M.A. (2002).** A comparison of the host-searching efficiency of two larval parasitoids of *Plutella xylostella*. *Environmental Entomology* **27**: 105-114.
- Waterhouse, D.F. & Norris, K.R. (1987).** *Plutella xylostella* (Linnaeus). pp. 177-191.dans: The Australian Center for International Agricultural Research ed., *Biological control: Pacific prospects*. Inkata Press, Melbourne.
- Waterhouse, D.F. (1992).** Biological control of diamondback moth in the Pacific. dans: Talekar, N. S. ed., Diamondback moth and other crucifer pests: Proceedings of the second International Workshop, Tainan, Taiwan, 10-14 December 1990.
- Wcislo, W.T. (1989).** Behavioral environments and evolutionary change. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **20**: 137-169.
- Webb, B.A. (1998).** Polydnavirus biology, genome structure and evolution. pp. 105-109 dans: Miller, L.K. and Bell, L.A. Edt. *The Insect Viruses*, Plenum Press, New York.
- Webb, B.A., Strand, M.R., Dickey, S.D., Beck, M., Hilgarth, R.S., Kadash, K., Kroemer, J.A., Lindstrom, K.G., Rattanadechakul, W., Shelby, K.S., Thoetkiattikul, L., Turnbull, M.W., Barney, W.E. & Witherell, R.A. (2006).** Polydnavirus genomes reflect their dual roles as mutualists and pathogens. *Virology* **347**: 160-174.
- Weeks, A.R. & Breeuwer, J. A. (2001).** *Wolbachia*-induced parthenogenesis in a genus of phytophagous mites. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **268**: 2245-2251
- Weisser, W.W. & Houston, A.I. (1993).** Host discrimination in parasitic wasps: when is it advantageous? *Functional Ecology* **7**: 27–39.
- Werren, J.H. (1980).** Sex ratio adaptations to local mate competition in a parasitic wasp. *Science* **208**: 1157-1159.

- Werren, J.H., Zhang, W. & Guo, L.R. (1995).** Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proc. R. Soc. London Ser. B Biol. Sci.* **261**: 55-71.
- Werren, J.H. (1997).** Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology* **42**: 587-609.
- Werren, J.H. & O'Neill, S.L. (1997).** The evolution of heritable symbionts. pp. 1-41 dans: O'Neill, S.L., Hoffmann, A.A. & Werren, J.H. eds. *Influential Passengers*, Oxford University Press, New York.
- West, S.A. & Herre, E.A. (1998).** Partial local mate competition and the sex ratio: a study on non-pollinating fig wasps. *J. Evol. Biol.* **11**: 531-548.
- West, S.A., Herre, E.A. & Sheldon, B.C. (2000).** The benefits of allocating sex. *Science* **290**: 288-290.
- West, S.A. & Sheldon, B.C. (2002).** Constraints in the evolution of sex ratio adjustment. *Science* **295**: 1685-1688.
- Willis, A.J., Memmott, J. & Forrester, R.I. (2000).** Is there evidence for the post-invasion evolution of increased size among invasive plant species? *Ecology Letters*. **3**: 275-283.
- Whitfield J.B. (2002).** Estimating the age of the polydnavirus/braconid wasp symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **99**: 7508-7513.
- Wu, Z., Hopper, K.R., O'Neil, R.J., Voegtlin, D.J., Prokrym, D.R. & Heimpel, G.E (2004).** Reproductive compatibility and genetic variation between two strains of *Aphelinus albipodus* (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of the soybean aphid, *Aphis glycines* (Homoptera: Aphididae). *Biological Control* **31**: 311-319.
- Xu J.X., Shelton A.M. & Cheng X.N. (2001).** Variation in susceptibility of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) to permethrin. *J. Econ. Entomol.* **94**: 541-546.
- Yamada, Y.Y. & Miyamoto, K. (1998).** Payoff from self and conspecific superparasitism in a dryinid parasitoid, *Haplogonatopus atratus*. *Oikos* **81**: 209-216.
- Zchori-Fein, E., Roush, R.T. & Hunter, M.S. (1992).** Male production induced by antibiotic treatment in *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae), an asexual species. *Experientia* **48**: 102-105.
- Zchori-Fein, E., Faktor, O., Zeidan, M., Gottlieb, Y., Czosnek, H. & Rosen, D. (1995).** Parthenogenesis-inducing microorganisms in *Aphytis* (Hymenoptera, Aphelinidae). *Insect Mol. Biol.* **4**: 173-178.
- Zhang, G., Schmidt, O., Asgari, S. (2006).** A calreticulin-like protein from endoparasitoid venom fluid is involved in host hemocyte inactivation. *Developmental & Comparative Immunology*, in Press.
- Zhou, W., Rousset, F. & O'Neill, S. (1998).** Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences. *Proc. Roy. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **265**: 509-515.