

ÉCOLE DOCTORALE Santé - Sciences Biologiques – Chimie du Vivant
Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte

THÈSE présentée par :

Odette BRUNEL

soutenue le : **10 Décembre 2012**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François - Rabelais**

Discipline/ Spécialité : **Sciences de la Vie**

**DE LA COMUNICATION ACOUSTIQUE
AU SEIN DU GROUPE : CONTRAINTES
ET MÉCANISMES**

THÈSE dirigée par :

M.GREENFIELD Michael

Professeur, Université François-Rabelais, Tours

RAPPORTEURS :

Mme. D'ETTORRE Patrizia
M. GRANDCOLAS Philippe

Professeur, Université Paris 13, Paris
Directeur de Recherche CNRS, Musée National d'Histoire Naturelle

JURY :

Mme. D'ETTORRE Patrizia
M. GRANDCOLAS Philippe
M. GREENFIELD Michael
M. LENOIR Alain
M. SEUER Jérôme

Professeur, Université Paris 13
Directeur de Recherche CNRS, Musée National d'Histoire Naturelle
Professeur, Université François - Rabelais, Tours
Professeur Émérite, Université François - Rabelais, Tours
Maitre de Conférences, Musée National d'Histoire Naturelle

L'importance du silence.....

Remerciements

Merci à mes bestioles ...

Résumé

Les animaux communicants par signaux acoustiques vivent souvent en agrégations au sein desquelles les interférences peuvent compromettre l'échange d'information. Chez les insectes où les mâles chantent en chœur, l'interférence locale entre les signaux de chacun impose des contraintes majeures pour les femelles qui doivent évaluer et localiser chaque partenaire potentiel. Les mâles peuvent également subir des difficultés pour évaluer la compétitivité de leurs voisins ainsi que pour indiquer clairement aux femelles les caractéristiques de leur chant. Par ailleurs, le bruit de fond des signaux masculins locaux peut perturber la détection d'autres sons de l'environnement, tels que ceux produits par les prédateurs. J'ai analysé différents aspects de cette problématique chez deux espèces : une pyrale nocturne et une sauterelle chez qui les individus se regroupent pour produire leur chant. A l'aide d'expériences de laboratoire, j'ai pu mettre en évidence les mécanismes comportementaux permettant aux femelles de localiser les mâles et aux mâles de communiquer efficacement au sein des groupes, sans entraver la perception de leur environnement acoustique. L'évolution de ces mécanismes aurait été favorisée par la sélection sexuelle.

Mot clés : sélection sexuelle, signaux acoustiques, mécanismes comportementaux, pyrale nocturne, sauterelle.

Abstract

Acoustic animal species are often found in aggregations where their communication may be compromised by a high level of signal interference. In acoustic insects where males sing in choruses, local signal interference may present major difficulties for females evaluating and localizing individual males. Males too may be prevented from assessing the competitiveness of their neighbors as well as from advertising the characteristics of their own signals to females in a clear manner. Moreover, the background noise from local signals may prevent both sexes from perceiving other sounds in the environment, e.g. predator cues. I studied these problems at several levels in two acoustic insect species, a pyralid moth and a bushcricket, in which males broadcast their advertisement songs while remaining in dense clusters. Experiments in the laboratory revealed behavioral mechanisms with which females can identify and localize favored males and others with which males can communicate effectively without forgoing general perception of the acoustic environment. The latter are male traits that have been favored by sexual selection.

Key words: sexual selection, acoustic signals, behavioral mechanisms, pyralid moth nocturne, bushcricket.

Table des matières

Introduction générale.....	15
1. Le choix des femelles basé sur les signaux acoustiques	18
2. Le système d'appel au sein du chorus	20
2.1 Le chorus et la sélection sexuelle.....	21
2.2 Communication acoustique et perception chez <i>Ephippiger diurnus</i> : un exemple unique du système d'appel en chorus.....	23
3. Le système d'appel au sein du lek.....	24
3.1 Communication acoustique et perception chez <i>Achroia grisella</i> : un exemple unique de système d'appel en leks	25
Le complexe scenario acoustique au sein des leks : équilibre entre comportement anti prédateur et signalisation compétitive chez une pyrale nocturne.....	26
The complex auditory scene at leks: Balancing of anti-predator behaviour and competitive signalling in an acoustic moth	27
Abstract	28
Introduction	29
Materials and Methods	32
1. Natural history and acoustic behavior of <i>Achroia grisella</i>	32
2. Population studied	34
3. General experimental protocol	34
4. Synthetic stimuli.....	36
Experiment 1. Do lekking males reduce their anti-predator response?.....	38
Experiment 2. What is the role of signal masking in attenuating the anti-predator response?	39
Experiment 3. What is the specificity of the silence response to predator cues?	40
Results	41
Experiment 1. Do lekking males reduce their anti-predator response?.....	41
Experiment 2. What is the role of signal masking in attenuating the anti-predator response?	43
Experiment 3. What is the specificity of the silence response to predator cues?	44
Discussion.....	47
Acknowledgements.....	51

Compétition male-mâle et choix de partenaire au sein d'un chorus chez <i>Ephippiger diurnus</i>	52
Résumé	53
Introduction	53
Méthodes - Chorus	59
1. L'espèce étudiée.....	60
2. Méthodologie expérimentale.....	61
3. Enregistrements et analyses des sons	63
4. Analyses statistiques	65
Résultats	65
1. Sélection intersexuelle pour les traits acoustiques dans un contexte de chorus.....	65
2. Comportement de choix des femelles.	66
2.1 Préférence femelles pour les traits acoustiques.....	66
2.2 Compétition et variation des signaux chez les mâles.....	68
Discussion	73
La préférence de la femelle	73
Les interactions mâle-mâle	75
La sélection sexuelle et les chorus	76
Corrélation entre la variation de la préférence femelle et celle des signaux mâle à travers les différentes populations d' <i>Ephippiger diurnus</i>	77
Avant propos	78
Introduction	79
Préférences des femelles et gradients d' un même trait	83
Matériels et Méthodes	84
Généralités de l'espèce	85
Populations étudiées	86
Protocole préliminaire	87
Caractères évalués	88
Protocole général	90
Analyses de données	94
Résultats	95
Chant type des populations	95
Expérience de phonotaxie chez les femelles	97
1. Réponse au nombre de syllabes	98

2. Réponse à l'effet de la priorité (décalage à partir du chant)	99
3. Réponses au rythme	101
Comparaison des réponses des femelles dans les diverses populations.....	101
Expériences de réponses chez les mâles.....	102
1. Réponse au nombre de syllabes	103
2. Réponse aux divers intervalles.....	104
3. Réponses au rythme	104
Corrélation entre signaux des mâles et préférence des femelles chez les différentes populations.....	105
1. Nombre maximal de syllabes vs nombre standard de syllabes	106
2. Préférence pour les chants en premier (Effet de la priorité):	106
Discussion.....	111
Conclusions	118
Perspectives.....	120
Du point de vue de la femelle.....	120
Du point de vue des mâles.....	121
Annexes	128

Liste des tableaux

- Tableau 1 - variations effectuées pour chaque stimulus acoustique correspondant au test de chaque population. Les croix de taille majeure représentent les valeurs du trait élevé testés 92
- Tableau 2 - Montre les différents traits de mâles chanteurs analysés pour chacune des populations. Les valeurs représentées correspondent à la moyenne d'un échantillon d'un extrait du chant de trois minutes par mâle et par population. 105
- Tableau 3 - Représente les pourcentages de la réponse positive des femelles dans les tests de phonotaxie de discrimination bidirectionnelle où ont été évalués différents stimuli du chant du mâle chez les différentes populations. 105
- Tableau 4 - Valeur de la moyenne de la durée (ms) du temps nécessaire à la réponse des mâles de chaque population, aux stimuli correspondants au chant naturel de sa population comparé avec la réponse aux stimuli de trois syllabes. Dans la dernière colonne se trouve la durée du décalage entre chants préféré par les femelles..... 108

Liste des figures

- Figure 1- Possible responses of males during and following presentation of a synthetic bat echolocation stimulus. Open rectangle represents the male's song emission during recording, and filled rectangle indicates the 3-s echolocation stimulus. Arrows above rectangles indicate latency of silence response, and double arrows below rectangles indicate length of silence response. a) no silence response; the test male does not cease singing for an interval > 100 ms during or following the echolocation stimulus. b) silence response < 500 ms in length during the echolocation stimulus. c) silence response > 500 ms in length that begins during the echolocation stimulus but terminates before the end of the recording, 6 s following the end of the stimulus. d) silence response that begins during the stimulus and continues after the end of the recording. Break in double arrow below rectangle indicates indeterminate length of silence response. Silence responses in a, b, c, and d correspond with the 4 response levels in experiments 1-3. 35
- Figure 2 - Oscillograms of stimuli presented in Experiments 1-3. a) Synthetic bat echolocation stimulus; a single echolocation signal, indicated by arrow, is enlarged in the graph to the right. b) Song stimulus, represented by a single-channel recording of 3 (lekking) males; a single pulse, indicated by arrow, is enlarged in the graph to the right. c) Noise stimulus. For playback, peak amplitudes of all stimuli were adjusted to an equivalent SPL = 90 dB, as perceived at the location of the test male. 37
- Figure 3 - Apparatus used for testing responses of singing *A. grisella* males to synthetic bat echolocation signals in Experiments 1-3. 1: overhead loudspeaker broadcasting bat echolocation signals; 2: horizontal shield of acoustic foam with hole (3) permitting transmission of echolocation signal to moth directly below; 4: platform mounted on a turntable such that it rotates around its central axis (5); 6: screen cage holding singing male *A. grisella*; 7: acoustic foam barrier that prevents focal male from hearing his neighbors (8, 9, 10); 11: laterally positioned loudspeaker used to broadcast a recording of an *A. grisella* lek in Experiments 2 and 3. 39
- Figure 4 - Signaling mode 42
- Figure 5 - Duration (a) and latency (b) of silence responses in Experiment 1. Box plots indicate median (solid black line), 25-75% range (box), 10-90% range (whiskers), and outliers for 2 signalling modes 44
- Figure 6 - Incidence of the four different levels of response (see Fig. 1) exhibited by test males presented with the male song stimulus and/or the synthetic bat echolocation

stimulus in Experiment 2. For each stimulus category, solid black bar indicates continued singing (response level 1), solid grey bar indicates an interruption of singing < 500 ms in length (level 2), diagonally-lined grey bar indicates an interruption \geq 500 ms but that terminates before the end of the recording (level 3), and open bar indicates silence that continues beyond the end of the recording (level 4). 46

Figure 7 - Incidence of the four different levels of response (see Fig. 1) exhibited by test males presented with the synthetic bat echolocation stimulus and/or the noise stimulus in male Experiment 3. For each stimulus category, solid black bar indicates continued singing (response level 1), solid grey bar indicates an interruption of singing < 500 ms in length (level 2), diagonally-lined grey bar indicates an interruption \geq 500 ms but that terminates before the end of the recording (level 3), and open bar indicates silence that continues beyond the end of the recording (level 4). For the two sequential stimulus categories, response levels 2, 3, and 4 represent interruptions that may begin and/or end during either the first or second stimulus; details are given in the Results. 47

Figure 1a- Représentation d'une phrase polysyllabique d'*Ephippiger diurnus* montrant les caractères intrinsèques du chant qui sont soumis à des variations parmi les différentes populations. Le nombre de syllabes est un trait qui représente la longueur totale de la phrase 57

Figure 1b - Les barres de la ligne A correspondent aux chants émis par un mâle A. En dessous, la barre de la ligne B correspond au chant d'un autre mâle (B) émis à proximité de celui émis par le mâle A. La zone en pointillé entoure la section de l'interaction entre les mâles. Un écart d'appel lorsqu'un (A) représente un chant « *en premier* » et la barre B un chant en deuxième. Représentation de l'effet de la priorité chez les femelles..... 57

Figure 1c - Réponse du mâle A avec un décalage de phases. Le mâle A a ainsi évité d'émettre un chant juste après B (qui aurait été considéré comme chant en deuxième) et a ainsi augmenter sa probabilité d'émettre un chant en premier dans le prochain cycle 57

Figure 2 - Dispositif expérimental: arène servant à simuler un chorus naturel avec 4 mâles, dans laquelle les tests de phonotaxie des femelles ont été faits 62

Figure 3 - Valeur relative des différents caractères acoustiques présents chez les mâles choisis par les femelles, exprimée comme la différence de la valeur d'un trait du mâle choisi par rapport à la moyenne des valeurs obtenues pour ce trait pour les 4 mâles du groupe. Les données correspondent à la minute précédant le choix des femelles ($N= 46$ chorus). Le chant en premier est le seul caractère statistiquement significatif (étoile) selon le U-test de Mann-Whitney avec correction de Bonferroni pour des comparaisons multiples

	(valeur critique ajustée de $\alpha= 0.016$). Le trait noir de la boîte à moustache indique la moyenne et le trait rouge la médiane.	67
Figure 4 - a)	Incidence totale des types chants réalisées par les mâles (n=27 chorus) au sein du chorus (n= 9 regroupements x 3). b) décalages (s) montrés par les mâles dans les interactions des chants considérés comme en premier-en deuxième (n=27 chorus).....	71
Figure 5 -	Exemples de l'attention sélective (pourcentage) de différents participants des chorus envers les autres mâles. Les réponses de chant en alternance et chant en deuxième envers le deuxième sont indiquées par des cercles. Les lettres correspondent à l'identification	72
Figure 1 -	Les barres de la lettre A correspondent aux chants émis par un mâle. En dessous, la barre de la ligne B correspond au chant d'un autre mâle émis à proximité de celui émis par le mâle A. La zone en pointillés entoure la section de cette interaction entre les mâles, un décalage d'appel lorsqu'un (A) représente un chant précédent (<i>en premier</i>) et la barre B un chant postérieur (<i>en deuxième</i>).....	80
Figure 2 -	Carte qui montre la localisation des populations étudiées. La ligne en pointillés marque la zone de transition par rapport au nombre de syllabes contenues dans les phrases du chant des mâles : AV zone ample variation et FV zone de faible variation. Les numéros sur la carte correspondent à la liste des populations situées en bas à gauche et l'altitude de chaque population.	87
Figure 3 - a)	stimuli édités qui représentent au canal I un chant de 4 syllabes et au canal II un chant de 3 syllabes. b) stimuli qui représentent au canal I un chant <i>en premier</i> qui précède un chant <i>en deuxième</i> émis au canal II. c) stimuli qui représentent en canal I un chant avec un rythme plus élevé que celui du canal II , en effet dans 1 s le mâle du canal I a émis deux chants pendant qu'au canal II dans la même période de temps, le mâle a émis seulement un chant.	90
Figure 4 -	Représente la comparaison de la préférence de la réponse des femelles pour les différents traits chez les différentes populations. V : Vilamòs, C : Cigalère, H : l'Hospitalet, P : Col de Puymorens, M : Col de Mantet. Les étoiles marquent les traits ayant été significatifs dans le test de Mann Withney. Réponses correspondants à trois répétitions de tests de phonotaxie de discrimination bidirectionnelle par femelle où ont été évalués différents stimuli du chant du mâle.	98
Figure 5 -	Graphiques comparatifs sur l'effet de la priorité qui montrent la préférence femelle pour différents décalages des chants en premier-chants en deuxième. (a) Comparaison de deux populations de la zone de faible variation (FV) ; (b) la comparaison des populations	

des différentes zones AV et FV, séparées géographiquement par 346 km approximativement. (c) la comparaison des deux populations de la zone d'ample variation (AV) et; (d) Comparaison des populations trouvées dans la zone de transition isolées mais situées à courte distance 6 km..... 107

Figure 6 - Histogrammes montrant la distribution de la fréquence du chant d'appel chez E. diurnus dans les différentes populations. Quand il y a en chant en premier (en 0) les mâles évitent de chanter dans la période où ils peuvent être perçu comme chantant en deuxième par les femelles car, elles sont capables de les distinguer à partir de 30 ms. Dans les graphiques dans les rectangles horizontaux (*barre*) en gris on observe le niveau de correspondance de l'effet de la priorité chez les femelles dans chaque population avec le silence des mâles dans la ligne rouge. Ça veut dire que si un mâle ne peut pas chanter avec un rythme plus rapide, c'est-à-dire devancer son voisin, il sera préférable d'attendre et de chanter en alternance (d'après 1000-2700 ms)..... 109

Figure 7 - Corrélation entre la préférence des femelles et les caractéristiques présentées par les mâles. Gauche: corrélation positive de la préférence chez les femelles pour les chant en premiers (*valeur du décalage maximal*) et l'ajustement de décalage chez les mâles (*décalage minimal* entre *chant en premier-chant en deuxième*). Cercles avec les numéros correspondent à les divers populations : 1-Montauban, 2-Cigalère, 3-Vilamòs, 4-l' Hôspitalet, 5- Col de Puymorens, 6- Col de Mantet..... 110

Introduction

Introduction générale

Les animaux vivent souvent en agrégations avec leurs congénères. En effet, la vie en groupe leur apporte divers avantages. Cependant, elle est aussi source de contraintes et de compétition. Au cours de l'évolution, différents mécanismes ont été mis en place pour limiter les effets négatifs de l'agression entre les animaux d'une même espèce. Ces regroupements peuvent être actifs où les individus profitent de leur appartenance au groupe; car ils peuvent repérer les prédateurs plus facilement, retrouver la nourriture, etc. Du point de vue du comportement sexuel, un mâle peut profiter d'un regroupement si les femelles s'orientent uniquement vers les mâles regroupés, comme est le cas lors de la formation des *leks* (Saether, 2009) (e.g. papillons, (Alem et Greenfield, 2010) ; mouche du fruit, (Pérez- Staples *et al.* 2012)). Un mâle inférieur dans la hiérarchie sociale peut ainsi rester auprès d'un mâle supérieur et de cette façon augmenter ses probabilités de rencontres avec les femelles. Ce comportement est fréquent chez les primates (Sakura, 1994, Boesch, 1996) et il existe des cas particuliers de stratégies connues comme « *patrollers* » chez des insectes (e.g. la particularité chez *Heliconius charitonia* (Mendoza-huerta et Macías-Ordoñez, 2009)). La vie grégaire présente aussi des inconvénients : transmission des maladies et des parasites, augmentation des chances d'être repérés par les prédateurs, augmentation du stress et surtout compétition pour des ressources généralement limitées. On pense que les avantages excèdent les souffrances puisque ces individus restent en groupe. De l'autre côté, il y a des regroupements passifs où les animaux arrivent et restent dans le même endroit grâce à un habitat particulier qui réunissent des conditions nécessaires pour une quantité suffisante d'individus restant dans cet endroit et ayant un domaine vital partagé. Qu'ils soient actifs ou passifs, les regroupements d'animaux posent des problèmes pour les individus. Dans le contexte de la communication, il y a des problèmes particuliers lorsque l'on appartient à un regroupement et ce pour chaque modalité de la communication. Quel que soit le sens utilisé, (visuel, chimique, acoustique, tactile), une fois au sein d'un groupe la communication devient essentielle. Les émetteurs ont besoin que le signal émis puisse être détecté, localisé, et discriminé par le destinataire ou récepteur de ce signal. L'efficacité de ces signaux sera soumise à la pression de sélection (Guilford et Dawkins, 1991).

Lorsqu'il s'agit d'une communications acoustique, les individus dans leur milieu naturel sont exposés à un ensemble d'ondes sonores d'origines variées (Brumm et Slabbekkon, 2005 ; Richardson et Langagne, 2009). Ces problèmes comprennent le « cocktail party effect » étudié chez les humaines (Cherry, 1996) où la difficulté de repérer un certain individu et la pratique de deux fonctions au même temps deviennent compliquées (e.g. l'activité sexuelle et repérer les prédateurs, discriminer les signaux individuels de congénères, etc). Ces problèmes arrivent car un grand nombre de signaux sont diffusés dans toutes directions au sein du groupe. Les différentes voix se superposent aux niveaux spectral et temporel et constituent des sources directes d'interférences, « effet de masque », affectant la discrimination du discours. Cet effet « masque » diminue par rapport à l'amplitude du signal invasive qu'interfère. Et cette effet, augmenterait selon : le recouvrement temporel et spectral, les nombre des signaux en parallèle et la proximité des sources sonores (*voir* Bronkorst, 2000). Ainsi, l'identification des signaux impliqués dans les choix des partenaires a fait l'objet de plusieurs études sur une large liste d'espèces (Anderson, 1994). Par exemple, pour l'acoustique, un animal ne peut pas entendre s'il diffuse lui-même des émissions sonores. Dans un groupe, ce problème augmente puisqu'un animal qui émet des signaux ne détectera pas bien ses voisins. Ainsi, tout animal, dans son milieu naturel, est exposé à un ensemble de sons de sources variées, pour former une onde sonore complexe qu'il lui faut séparer en représentations perceptuelles où images auditives (Bee et Mitcheyl, 2008). Les cas les mieux connu sont les chorus des passereaux, les colonies des oiseaux, et les chorus des insectes et anoures (revue dans Hulse, 2002, Gerardht et Huber, 2002). Au sein d'un chorus, les animaux font face à des contraintes acoustiques similaires, à celles de cocktail party car ils sont exposés à des multiples signaux présentant un fort taux de recouvrement spectral et temporel et émis depuis des sources sonores fortement agrégées dans un même espace (Richardson et Lengagne, 2009). Nous nous demandons donc s'il est vraiment possible de communiquer dans les endroits complexes et saturés en signaux et comment ceci peut affecter les choix de partenaire ? La meilleure manière d'étudier les problèmes intervenant dans les processus de signalisation est de le faire dans les conditions réelles dans lesquelles cela se déroule en milieu naturel.

Il est bien connu d'après Darwin (1871) que les mâles ont généralement intérêt à maximiser leur nombre d'accouplements et les femelles avec un taux de reproduction plus faible ont intérêt à être sélectives quant à la qualité de leurs partenaires sexuels. Les mâles pourraient donc profiter des signaux pour augmenter l'attrance des femelles en produisant

des signaux sexuels qui exploitent le système sensoriel des femelles (*théorie de la voie sensorielle*). Une telle exploitation sensorielle pourrait avoir un effet positif sur la descendance des femelles si le succès reproducteur de ceux-ci augmente grâce à l'héritabilité du trait « manipulateur » (Kokko *et al.* 2003).

Ce travail montre pourtant, notre intérêt à étudier en détail des signaux acoustiques impliqués dans la communication intersexuelle. L'objectif majeur de ce travail a été d'étudier comment les individus affrontent leurs problèmes de communication, du point de vue de la sélection sexuelle, prenant en compte les agents qui influencent leurs signaux acoustiques à divers niveaux pendant le processus de appel et choix des partenaires.

Nous avons étudié, dans un premier temps, le cas du papillon, *Achroia grisella* dont le chant d'appel se fait en leks. Ces papillons utilisent la même bande de fréquence, des sons ultrasoniques que leurs prédateurs. Cette convergence ou coévolution représente une circonstance difficile parce que l'appartenance au groupe exige un certain niveau de compétition de signal, et les mâles augmentent leurs émissions sonores ce qui entraîne une diminution de leur capacité à entendre les prédateurs qui arrivent. Dans telle situation les mâles chantants se trouvent dans le dilemme entre se reproduire ou se protéger du prédateur. Que font les mâles dans ce contexte et comment ceci altère t'il leur signalisation? Postérieurement, nous nous sommes intéressés aux interactions et à la complexité de la sélection intersexuelle et intra sexuelle au sein des regroupements où les systèmes de communications et signaux sexuels sont dynamiques. Comment a lieu la compétition acoustique ? Les signaux sont-elles repères par les femelles ? Ces interactions acoustiques lors de la compétition *perse* attirent-elles les femelles? En effet, la communication sexuelle au sein d'un regroupement est dynamique qui peut être provoqué parce que les agrégations déclenchent une compétition de signal parmi les mâles. Ainsi, chaque mâle doit égaler ou excéder ses voisins afin de gagner un succès reproductif. On peut imaginer une compétition de signal où chacun des mâles augmente son amplitude, rythme, etc. Cependant, lors des ces interactions entre les mâles, quand on pense qu' ils sont en train d'émettre un signal suivi de l'autre pour attirer les femelles, l'apparition des mécanismes d'ajustement pour garder un rythme, confronter aux voisins sont attendues. *e.g.* ajustements des intervalles « *timing* », compétition focalisée « *attention sélective* ») et en même temps les femelles sont présentes pendant ces types de comportements acoustiques. Sont- ils perçus et préférés au sein du groupe ? Ou les signaux se perdent-ils dans ce milieu dynamique et saturé en stimuli ? Comment le scénario auditif fonctionne-t-il pour assurer une communication efficace ? Le cas

de l'espèce *Ephippiger diurnus*, qui chante en chœur suivant des règles de rythme est un bon modèle biologique pour étudier la complexité de la communication et la sélection sexuelle dans le contexte de groupe.

Enfin, chez cette même espèce de sauterelle (*E. diurnus*) il y a une divergence dans les chants d'appel, au niveau des nombres de syllabes dans leurs phrases, et différents traits sont sujets à l'influence des phénomènes acoustiques, tel que l'effet de la priorité. Nous nous sommes intéressés à les étudier à une échelle populationnelle. Fisher (1930) avait suggéré qu'une nouvelle préférence dans les accouplements par mutation pourrait modifier les réponses des femelles vers quelques aspects comportementaux ou morphologiques des mâles auxquels elles seraient sensibles. Il peut arriver qu'un nouveau trait chez les mâles puisse être favorisé dans la préférence des femelles, surtout si celui-ci ajuste ou exploite quelque biais préexistants dans le système sensoriel de la femelle. Nous avons donc commencé à évaluer comment l'isolation pourrait peu à peu faciliter les différences sur les traits sujets à sélection chez *E. diurnus*, lorsque il s'agit d'une même espèce ayant des chants variés. Et surtout à savoir si la préférence des femelles prend un rôle prépondérant dans l'apparition de ses variations à cause de la variation de leur préférence qui pourrait passer d'une génération à l'autre.

J'ai étudié ainsi, à différents niveaux, les signaux sexuels dans la situation de communication en groupe, chez deux espèces d'insectes acoustiques : un papillon nocturne et une sauterelle. Grâce aux expériences, j'ai constaté des mécanismes éthologiques dévoilant l'importance de la sélection sexuelle avec lesquels les femelles localisent certains mâles et d'autres avec lesquels les mâles augmentent la clarté et la compétitivité menant à des variations dans leurs signaux.

1. Le choix des femelles basé sur les signaux acoustiques

En réalité, les femelles semblent préférer précisément les caractéristiques du signal qui sont les plus coûteuses en énergie. Le choix d'une femelle peut se centrer sur la préférence pour les propriétés statiques d'un trait (périodes spatio-temporelles fines (à une échelle plus courte) ou sur des propriétés dynamiques du trait (spatio-temporelles longues). Le critère de choix des femelles est très divers parmi le taxa chez les espèces dont signal acoustique est impliqué dans le choix des partenaires. Nous présentons alors quelques exemples de préférence pour les traits qui sont fréquemment objet de la sélection intersexuelle. Les

femelles sélectionnent ainsi ici des grands mâles car le nombre de pulses est corrélé positivement avec la taille de l'individu (Gray, 1997). D'autres propriétés temporelles comme la durée d'un pulse ou bien encore la durée totale d'émission de ces pulses ou phrases sont importantes chez divers espèces d'oiseaux qui présentent des chants plus complexes et même chez certaines insectes comme le tettigonid *E. diurnus*, car les femelles ont une préférence pour des chants avec un nombre maximal de syllabes présenté par les mâles de sa propre population (Ritchie, 1996). Chez le grillon domestique, *Acheta domesticus*, (Gray, 1997) les femelles préfèrent des mâles émettant un grand nombre de pulses. Le rythme d'émission du signal est aussi un élément clé dans le choix du partenaire. Chez la rainette, *Hyla versicolor*, il a été démontré que les femelles préféraient des chants longs répétés avec un faible rythme, plutôt que des chants courts répétés plus fréquemment (Gerhardt *et al.*, 1996). Aussi, chez certaines espèces, comme les sauterelles, le rythme du signal est un bon indice concernant les bénéfices directs que les femelles peuvent espérer, tels que des grands spermatophores ou des territoires riches en ressources (Gwynne, 1982; Alatalo *et al.*, 1990). Chez les insectes et les anoures, les femelles présentent aussi, habituellement une phonotaxie vers le plus intense des deux sons, lorsque ces sons sont identiques pour tous les autres paramètres, un autre exemple, est le Diamant mandarin, *Taeniopygia guttata* (Ritschard *et al.*, 2010) où les femelles montrent une préférence pour des chants plus forts, émis à des amplitudes plus importantes. Finalement sur la fréquence porteuse, les patrons des préférences sont beaucoup plus variables que d'autres caractères. Par contre, un nombre substantiel d'études sur la préférence pour la fréquence n'ont pas montré de résultats significatifs importants (e.g. Arak, 1988 ; Doolan et Young, 1989 ; Lopez et Narins, 1991 ; Cherry, 1993) Mais, il y a quelque exemples chez les anoures (*Acris crepitans*, (Kime et al, 2004), *Hyla ebraccata* (Howlerman, 1998) et *Bufo viridis* (Catellano *et al.*, 2008) où les fréquences plus basses ont été préférées sur la moyenne, en revanche chez la sauterelle *Kawanaphila nartee* (Bailey *et al.* 2007) e, la fréquence la plus haute a été significativement plus préférée que la moyenne.

Quelle que soit la théorie qui permet de la expliquer la préférence des femelles (e.g. théorie de l'emballement, bonnes gènes), les femelles doivent exercer une forte pression sélective qui favorise l'émission des signaux permettant aux femelles de les identifier et de repérer ces caractères qui pourraient leur conférer des bénéfices, soit directs, soit indirects (Anderson, 1994).

2. Le système d'appel au sein du chorus

Plusieurs espèces se réunissent en groupes pour attirer leurs partenaires, formant un environnement que l'on appelle un chorus dans le domaine de l'acoustique. Le cas le plus fréquent, ce sont les espèces d'oiseaux qui se réunissent au crépuscule pour chanter mais il y a aussi divers autres taxa qui présentent ce comportement, comme les singes *Guereza colombus*, (Harris, 2006) les singes hurleurs *Allouatta pigra* (Cornick et Markowitz, 2002) *Allouatta palliata* (Whitehead, 1987) les mysticètes (Clark et Gagnon, 2006) et les crabes (Booksmythe *et al.*, 2008) entre autres. En utilisant différents types de signalisations les individus rencontrent des problèmes spéciaux pour communiquer efficacement, tels que les signaux lumineux chez les lucioles *Photinus carolinus* qui doivent émettre leurs signaux en une synchronie presque parfaite où il n'y a pas de décalage perçu car leur émission est déclenchée en même temps (Coppeland et Moiseff, 1995 ; Buck, 1981). Chez les espèces acoustiques, la formation du chorus augmente la compétition pour attirer les partenaires. Car ils sont à proximité, d'une côté les femelles peuvent comparer et discriminer plus facilement et ainsi que les mâles peuvent entendre les signaux de leurs voisins et ils réagiront pour améliorer leur propre signaux, ils peuvent se mesurer en face du signal de l'autre, pour essayer de éloigner l'autre si il y a une femelle à proximité, pour faire attention à comment faire pareil que les autres. Alors, le sexe choisissant a besoin d'être capable de détecter, reconnaître et rencontrer les individus plus attractifs parmi d'autres ainsi que dans un milieu avec des interférences acoustiques diverses.

Le chorus est ainsi un comportement de signalisation collective chez les animaux acoustiques. Il est prévu que chez les espèces qui chantent avec un rythme déterminé émergent des systèmes de communication spécialisés. En effet, dans le chorus les diverses études sur les anoures et insectes ont démontré qu'il y a des règles de rythme suivies par les mâles, à partir desquelles apparaissent deux stratégies de chant: la synchronie et l'alternance (e.g. Greenfield *et al.* 1997, Sismondo, 1990, Moore *et al.*, 1989, Hanson, 1978, Loftus-Hills, 1974, Jones, 1966 a b). La synchronie parfaite existe quand le signal de deux ou plus d'individus est émis en même temps (phase relative de 0°). L'alternance parfaite a lieu quand deux individus maintiennent la même période de silence entre leurs chants et ces chants ne sont jamais superposés (Greenfield, 2010).

Les différentes théories évolutives ont proposé que ces chorus suivant un rythme déterminé puissent représenter diverses circonstances. Pour la synchronie, une idée proposée est qu'il s'agirait d'un moyen de réduire la prédation, pour confondre les prédateurs potentiels (Tuttle and Ryan, 1982). Une autre hypothèse propose que le rythme suivi, (*e. g.* la longueur de la période), soit un code entre les conspécifiques pour se reconnaître (Greenfield, 1994). D'autre part, le signal collectif de plusieurs mâles augmenterait l'attrait total pour les femelles (the bacon model, Buck et Buck, 1978). Finalement, il a été proposé que c'est un mécanisme pour éviter d'autres interférences acoustiques (Römer, et al, 1989). D'autre part, pour l'alternance, Schwartz (1982) propose qu'il s'agit soit d'un système pour maximiser le temps de transmission du groupe (*i. e.* *duty cycle* / cycle rapporteur) ou pour préserver les divers composants du signal, aussi important pour la reconnaissance des femelles. Néanmoins, plus récemment, il a été suggéré, tant pour la synchronie que pour l'alternance, que c'est la compétition entre mâles qui est impliquée (Greenfield et Rozen, 1993); (Snedden et Greenfield, 1998). En outre, tous ces modèles assument une fonction coopérative du comportement de chorus. Il pourrait également s'agir d'un mécanisme par lequel un regroupement est en compétition avec les regroupements voisins pour attirer les femelles (*e.g.* Harris, 2006). Ou bien, que ce même mécanisme fonctionne au niveau de l'individu et que chaque mâle est en compétition avec les autres de son propre groupe pour attirer les femelles (Gerhardt et Huber, 2002). Dans les chorus il existe alors un niveau de signalisation acoustique représenté par les rencontres des mâles à travers de divers ajustements de leur chant et qui ont lieu à plusieurs occasions le long de la journée.

2.1 Le chorus et la sélection sexuelle.

En effet, la sélection sexuelle peut être un facteur important chez plusieurs animaux chantant en chorus. Dans le scénario d'un chorus et du point de vue de l'individu, on pense aux situations qu'affrontent les femelles et les mâles pendant la recherche des partenaires. Les femelles d'une part devront faire face aux stimuli qui appartiennent aux caractères du chant *perse* et en même temps aux stimuli relatifs qui correspondent aux interactions acoustiques entre les mâles. Les mâles, de leur côté, doivent être attentifs aux chants de leurs voisins pour réagir en conséquence sur leur manière de chanter afin d'attirer les femelles.

Plusieurs travaux de recherche existent actuellement, centrés sur la sélection sexuelle au sein des chorus qui soutiennent l'hypothèse de la compétition et ses conséquences. En revanche autres idées ont été discutées par Snedden et Greenfield (1998) : ils ont proposé

qu'il s'agit d'un épiphénomène émergeant résultant de la compétition entre les mâles. Un exemple commun ce sont les sauterelles qui chantent en chorus synchroniques et en alternance.

Cependant, il y a des études qui ont abordé la question de comment le choix des femelles peut affecter le patron de signaux collectifs des mâles. Un exemple, les sauterelles *Paneroptera nana*, une espèce où mâles et femelles chantent mais les femelles ont besoin d'un minimum de décalage de phase pour répondre et commencer le duo (Tauber, 2001). Chez les oiseaux le chant est complexe et comprend différents éléments, il y a des cas très extrêmes comme le *Pipit spioncelle* () où seuls les meilleurs mâles peuvent produire le type de chant attirant pour les femelles (Rehsteiner et al, 1998). Orthoptères et anoures sont des espèces qui forment typiquement des chorus où l'influence des deux sexes dans leurs signaux est éminente (Lengagne, 2000),(Greenfield, 2010). Un exemple pertinent, sont les études faites auparavant sur le chorus de type mixte d'alternance et de synchronie imparfaite d'*Ephippiger diurnus* où Greenfield et Snedden (2002) ; Berg et Greenfield, (2005) ont déjà observé chez cette espèce de sauterelles une forte influence de la sélection sexuelle dans les phénomènes particuliers de leur chant. Une explication pour l'apparition de la synchronie imparfaite dans l'espèce est l'influence de l'effet de la priorité, consistant en la préférence de femelles pour le signal émis en premier par un mâle spécifique dont le signal est suivi à une très courte période de temps par le chant d'un voisin. Ce phénomène est certainement très intéressant lorsque à la base les interactions des mâles d'*E. diurnus* est un chorus typiquement d'alternance. Particulièrement, c'est d'autant plus intéressant que des études ont été faites sur le choix des femelles ainsi que des interactions entre les mâles pendant le cortège au milieu d'un chorus naturel avec les sauterelles *Ligurotettix planum*, proche de Portal Arizona,U.S.A., sur *Neoconcephalus spiza* proche de Gamboa, Panamá et sur *E. diurnus* proche de St. Jean de Buèges, Hérault, France. Les résultats observés ont démontré une forte préférence pour les mâles qui émettent plusieurs chants en premier pendant les interactions acoustiques avec leurs voisins. En même temps ces études n'ont été réalisées qu'avec des populations d'une à deux syllabes et ne comprennent pas des évaluations de la préférence des femelles en considérant toutes les caractéristiques potentielles du chant. On distingue aussi, que les mâles observés ont tendance à réaliser plusieurs ajustements dans leurs signaux en réponse aux modifications que réalisent de leur côté certains de leurs voisins (voir section 5) ou (Greenfield, 1994). Comment les femelles font –t- elles pour choisir leur partenaire au milieu d'un chorus où tous les signaux sont mélangés et en constante variation ? Sont-elles capables de discerner et

discriminer les signaux dans ce contexte ? Et en parallèle, chez les mâles, à quels ajustements des signaux acoustiques on observe la réponse compétitive la plus importante au sein d'un chorus ? En outre, quelque chose de très important à observer dans une deuxième étape des études axées sur les changements de chant d'un même mâle, c'est la vérification si, en vertu de la présence de femelles, les caractères du chant sont altérés.

D'autre part, on s'attend à ce que les femelles montrent une préférence pour différentes caractéristiques du chant des mâles. En même temps il existe la possibilité que les femelles deviennent moins sélectives au sein d'un chorus. De fait, les traits acoustiques du chant qu'une femelle doit discriminer comprennent deux classifications : une qui correspond à des caractéristiques spécifiques du chant comme la longueur, l'intensité, la fréquence etc., et l'autre qui correspond à des traits d'interaction, traits plutôt comportementaux et pour cela, traits relatifs. Ces derniers selon plusieurs études ne sont pas forcément constants chez un même individu.

2.2 Communication acoustique et perception chez *Ephippiger diurnus* : un exemple unique du système d'appel en chorus.

Le système d'accouplement de l'espèce a lieu au sein de structures de mâles regroupés pour chanter (chorus) afin d'attirer les femelles pendant la journée tout au long de la matinée (Greenfield, 2010). Les femelles se promènent entre les buissons et d'un buisson à l'autre pour écouter les divers chanteurs avant de prendre une décision et de se diriger vers un mâle spécifique. Les mâles émettent un chant à une fréquence de 40 kHz et à une amplitude de 90 dB à 60 cm de distance. Ces chorus se forment dans les arbustes près de la forêt ou de la garrigue à la lisière des végétations plus abondantes. Le chant est émis uniquement par les mâles par stridulations, en frottant une contre l'autre ces deux ailes vestigiales, dont une possède une rangée de dents cuticulaires qui frottent sur une veine saillante portée par l'autre aile (Dumortier, 1963). Chaque mouvement d'ailes provoque un chant ou syllabe de 100-150 ms environ. Il existe une importante variation dans les caractéristiques du chant consistant précisément, en des différences dans le nombre de mouvements alaires effectués par phrase (Busnel, 1956; Oudman *et al.* 1990; Ritchie 1995). Ces variations sont de plus ou moins une syllabe au sein d'une population, mais ce même phénomène présente des variations géographiques importantes. Les différentes populations sont isolées et présentent peu de possibilités de contact entre elles puisque les individus ne volent pas. A ce sujet, il y a une importante division: il y a des zones où les populations émettent un maximum de deux

syllabes (mono ou bi-syllabiques) et des populations où le nombre de syllabes est un gradient qui va de 2 à 8 syllabes (polysyllabiques). Au sein de cette dernière zone existent des variations inter-populationnelles plus importantes (Duijm, 1990). Nous étudions en particulier des populations qui ont été récoltées sur différents sites dans les Pyrénées de la frontière de La France et L'Espagne) Les caractères relatifs du chant du mâle impliquent des variations possibles du comportement acoustique dans un même individu. Au sein d'un chorus on s'attend à observer plus d'ajustements dans les signaux d'avertissement des mâles. Alors, d'après des observations réalisées par Greenfield et Snedden (2002) afin d'augmenter leur attrait on prédit que : a) les mâles modifient la longueur de leurs phrases quand un autre mâle a modifié son chant, b) que les mâles réalisent des ajustements de rythme du chant surtout quand un nouveau mâle s'incorpore au chorus, et c) qu'ils modifient aussi la phase du rythme ce qui implique une augmentation de la fréquence des chants leaders émis.

Nous suggérons que dans un milieu aussi bruyant que celui d'un chorus, il doit exister des signaux plus repérables que d'autres et que ceux-ci seront donc les signaux préférés par les femelles. Considérant l'influence d'autres stimulus et interférences présentes dans leur milieu naturel il serait intéressant de connaître la forme particulière dans laquelle agit réellement la sélection sexuelle sur la variation de signaux tant dans la sélection.

3. Le système d'appel au sein du lek

Dans le cadre du lek on observe des différents regroupements des mâles paradant dans un même espace, en train d'émettre leurs signaux d'avertissement pour attirer des femelles. Les mâles défendent leurs petits territoires et peuvent entrer en concurrence avec leurs voisins du lek en utilisant leurs ornements et signaux visuels ou acoustiques extravagants. Les femelles vont vers les leks dans le seul but de se reproduire. Les femelles vont donc montrer une préférence pour des caractères particuliers présents chez les mâles lorsqu'elles devront en choisir un parmi les individus du lek. Les femelles peuvent aussi visiter plusieurs leks avant de prendre une décision. Ce choix, va conduire à une sélection persistante des femelles pour des caractères particuliers de traits des mâles (Miller and Moore 2007). Le comportement de lek a été décrit en premier chez les oiseaux tels que le Tétraz des armoises (*Centrocercus urophasianus*), l'Outarde canepetière (*Tetrax tetrax*) ou le Colibri à queue large (*Selasphorus platycercus*). Il apparaît également chez certains mammifères comme les Kobes de Buffon (*Kobus kob*) ou le Topi (*Damaliscus korrigum*), chez certains poissons de la famille des cichlidés, chez des amphibiens comme la rainette verte (*Hyla arborea*) et même chez des

insectes comme la mouche du fruit telle que *Anastrepha ludens* (Perez-Staples *et al.* 2010), ou les pyrales telle que *Achroia grisella* (Thornhill and Alcock, 1983; Bradbury, 1985). Ces dernières études confirment qu'au sein des leks, les femelles se focaliseront uniquement sur l'apport de bénéfices indirects.

3.1 Communication acoustique et perception chez *Achroia grisella* : un exemple unique de système d'appel en leks

Principalement durant la première partie de la nuit ils se forment des leks ou regroupements de mâles de différentes tailles. Les mâles sont perchés sur un support durant l'émission de ses avertissements diffusés dans toutes les directions pour attirer les femelles (Spangler *et al.*, 1984). Les femelles se promènent en volant et sont attirées par les chants des mâles, nous observons donc, un comportement de phonotaxie chez cette espèce qui commence par une attraction vers un lek particulier (Alem et Greenfield, 2010) et après la femelle marche et se dirige vers un des mâles du groupe. Seuls les mâles sont capables d'émettre des signaux acoustiques. Ces signaux sont ultrasoniques et produits par de rapides battements des ailes qui provoquent la déformation de leurs timbales, organes situés à la base des ailes. Le son produit est d'une amplitude de 95 dB pe SPL (*peak equivalent sound pressure level*) et est composé de fréquences allant de 70 à 130 kHz (Snedden *et al.*, 1994). Le signal sexuel est constitué d'une paire des pulses délivrés de manière rythmique à un taux d'environ 100 paires de pulses générées par les timbales gauches et droites du mâle durant une montée ou une descente de l'aile. Sensibles et ajustés (réglés)aux sons de fréquences allant de 30 à 120 kHz (Spangler et Takessian, 1983).Par contre, aussi bien les mâles que les femelles *A. grisella* sont munis d'une paire d'organes tympaniques abdominaux (Hintze-Podufal et Hermanni, 1996). Ils présentent une même bande de fréquence que leur prédateur : La chauve souris et quand il attend le son ultrasonique de celui-ci ils s'arrêtent de chanter pour éviter être attaqués. Néanmoins, lorsque ils sont très investis dans la compétition ils ne s'arrêtent pas, ou bien réagissent avec un petit stop, dans leurs émissions, dont silence et trop courte. Leur ambiance acoustique est donc saturée de sons de conspécifiques à courte distance, et des signaux de multiples sources depuis long distance qui peuvent bien masquer leur prédateur.

Partie 1

Le complexe scenario acoustique au sein
des leks : équilibre entre comportement
anti prédateur et signalisation compétitive
chez une pyrale nocturne

Article 1

The complex auditory scene at leks:
Balancing of anti-predator behaviour and
competitive signalling in an acoustic moth

Odette Brunel-Pons, Sylvain Alem and Michael D. Greenfield

Animal Behavior, 81 (2011) 231-239

Abstract

Whereas sexual activity in many animal species is reduced when predation pressure intensifies, such reduction may be attenuated in accordance with age, demography, or sexual competition. For example, males in lekking aggregations might forgo evasive behaviour and continue their signalling activity when exposed to predation for various reasons: the pressure to engage in signal competition with neighbours outweighs the risk of a predator attack, an increasing number of males joining a lek lowers the per capita risk of attack because predators become satiated or predation pressure is diluted, predator cues are masked by the signals of a male's neighbours within the lek, or limitations on general attention prevent a lekking male from performing both signal competition and monitoring of predators at the same time. We addressed the problem of balancing anti-predator behaviour and signal competition in an acoustic pyralid moth, *Achroia grisella*, in which males gather in leks and broadcast an ultrasonic mating call. Previous and concurrent studies showed that *A. grisella* can be menaced by substrate-gleaning bats and that singing males generally become silent upon perceiving bat echolocation signals or pulsed ultrasound bearing the characteristics of these signals. In the current study we showed that the incidence and duration of these silence responses are greatly reduced in lekking males as compared with solitary individuals. Moreover, a moderate reduction in silence responses persists when individual males are presented with the broadcast of song from a lek followed sequentially with bat echolocation stimuli. Thus, while signal masking may play a role in attenuating anti-predator behaviour in lekking males, other factors, including signal competition and dilution of predation pressure, are likely influences as well.

Key words: acoustic insects, Lepidoptera, life history theory, sexual selection, tradeoff, ultrasound signals

Running title: Anti-predator behaviour and competitive signalling

Introduction

Studies of mating behaviour in both vertebrate and invertebrate species commonly note marked reductions of or changes in sexual activity in the presence of predators (Burk 1982; Magnhagen 1991; Fuller & Berglund 1996). Because male signaling is often conspicuous to natural enemies as well as to females (Zuk & Kolluru 1998), males are expected to broadcast their advertisements at reduced intensity, intermittently, or not at all when predators are perceived. Similarly, the orientation movements of both sexes during pair formation may reveal their presence to third parties – eavesdroppers – and females may therefore show less receptivity to males and male signals (Farris *et al.* 1998; Dill *et al.* 1999; Jones *et al.* 2002), or less discrimination among local males (Hedrick & Dill 1993; Danchin *et al.* 2005), if predation intensifies. Courtship and copulation pose additional risks (Sih *et al.* 1990; Koga *et al.* 1998; but see Gwynne 1989 for data indicating an absence of risk) and may also be shortened, or avoided and deferred until a safer moment: The attention to one's partner that normally occurs during courtship may be incompatible with the vigilance necessary to monitor predators, and the immobility during copulation may render escape from predators difficult or impossible.

These above expectations are general predictions which may be modified in accordance with the principles of life history theory (Candolin 1998). For example, as animals age and the expected number of future mating opportunities diminishes, the decision equation that modulates the conflicting demands of current reproduction versus survival and the possibility of future reproduction may change such that males continue signaling and females remain receptive and orient toward signaling males under higher levels of perceived predation (Lafaille *et al.* 2010). Thus, individuals of either sex would not forgo terminal mating opportunities under some conditions (Clutton-Brock 1984).

Social behavior and the competition inherent within groups introduce the possibility of additional modifications to the partitioning of effort between current reproduction versus survival and potential future reproduction. From the male perspective, when individuals advertise in the vicinity of conspecifics, the phenomenon of signal competition arises in which each male may be under pressure to at least match the broadcasts of his neighbours

(Walker 1983; West-Eberhard 1984; Greenfield 2005; e.g., Bee & Perrill 1996; Gerhardt *et al.* 2000). To do otherwise may relegate a given male to relatively low mating success, since females are likely to make simultaneous comparisons of local males. In this context, one may expect males to continue signaling longer in the presence of predation when they are surrounded by signaling neighbours than when they signal alone: In the former case, a male that invariably ceases signaling and opts for survival may suffer a substantial loss of current reproduction, whereas in the latter case this loss may be relatively small. Even in cases where females cease orientation and mating activity in the presence of predators, males who continue signaling could benefit because females may continue to assess males over an extended time interval, including the interlude of predator presence, and base their evaluation on overall signaling during the entire interval.

Once males signal in aggregations, which in many cases may constitute lekking behaviour (Höglund & Alatalo 1995), the additional factor of ‘predator satiation’ is liable to arise: whereas the enhanced signaling output of an aggregation may draw the attention of more predators than a solitary male does, the increased number of or attention by predators does not keep pace with the increasing size of the aggregation (Karbon 1982; Turchin & Kareiva 1989). That is, overall predation pressure at an expanding aggregation does increase, but predation pressure as measured on a per male basis actually decreases. This decrease in per capita predation pressure may also reflect the increased vigilance that group membership affords (Lack 1968; Hamilton 1971), or that when a predator arrives and attacks any member of the group, neighbours detect that attack and immediately cease signaling and other conspicuous activity. Such satiation and ‘dilution’ of predation pressure have been proposed as two of the various influences on the evolution of leks (Höglund & Alatalo 1995). From our current perspective, satiation and dilution may also be responsible for reduced anti-predator behaviour in aggregations of signaling males: Males in groups can afford to expend greater effort on current reproduction because the risk of predation suffered by any given male is reduced.

Signal masking represents yet another factor that may arise in male aggregations and influence further reductions of anti-predator behaviour. Signal masking is liable to occur where male advertisements and cues revealing the presence of predators are both transmitted along the same channel, and where multiple emissions along that channel may interfere with perception. Acoustic communication is a likely candidate for masking because predators are often recognized by virtue of their own acoustic signals or inadvertently produced sounds

(Bradbury & Vehrencamp 1998; e.g. Miller & Surlykke 2001). Moreover, the simultaneous production of sounds from multiple sources may prevent a receiver from recognizing or evaluating some or all of the emissions (Bee & Micheyl 2008). Thus, we can predict that when acoustically signaling males broadcast in aggregations, they might continue to signal in the presence of predators simply because they do not effectively hear the latter's cues. But interference may be a more general phenomenon than the physical masking of predator cues by the signals of neighbouring males. A 'cognitive interference' might also arise because males within aggregations invest strongly in competition and attend closely to their neighbours' activities and signals (see Burk 1982). Such focus may preclude the recognition and evaluation of predator cues, particularly when weak or intermittent, owing to neural limitations on attention (Dukas 2004).

Here, we present a study that tested how males in an acoustic insect balance current reproduction versus survival, i.e. signaling versus anti-predator behaviour, when solitary and when aggregated. We first addressed the basic prediction that signaling behaviour would take precedence in aggregations. We then implemented a series of experiments to identify which among the several factors outlined above may have been responsible for our observed result: males in aggregations do tend to signal at an elevated rate relative to solitary individuals. In this regard, we note that the several factors are not mutually exclusive, and our objective was to identify the stronger factors and to understand how the various contributing factors might be linked.

We studied signaling in *Achroia grisella*, an acoustic pyralid moth (lesser waxmoth) in which males advertise to females with an incessant train of paired pulses of ultrasound (Spangler *et al.* 1984). Signaling *A. grisella* males often gather in small lekking aggregations within which signal competition is likely to arise: Experiments have shown that males accelerate their pulse-pair rhythm when they perceive the songs of neighbours above a threshold amplitude (Jia *et al.* 2001), and faster pulse-pair rhythms are generally more attractive to female *A. grisella* (Jang & Greenfield 1996). Thus, the acceleration response may represent the way in which an *A. grisella* male can match or exceed the signals of neighbours within its aggregation. Other experiments have revealed specialized responses of both male and female *A. grisella* to synthetic stimuli representing the echolocation signals of insectivorous bats (Greenfield & Weber 2000; Rodriguez & Greenfield 2004; Greig & Greenfield 2004; Greenfield & Hohendorf 2009; Alem & Greenfield 2010; Lafaille *et al.* 2010), as well as to live bats flying and emitting echolocation signals in the vicinity. In

particular, signaling male *A. grisella* generally become temporarily silent when exposed to these stimuli (Greenfield & Baker 2003). Substrate-gleaning bat species (*Rhinolophus ferrumequinum*) have been observed attending to signaling *A. grisella* males in laboratory experiments (S. Alem, B. Siemers, K. Koselj, unpublished data), and these bats will readily feed on *A. grisella*. We therefore interpret the silence response as anti-predator behaviour that protects a male from attack by this guild of bats, which may constitute 30% of the bat fauna in various of the geographic regions of the world where *A. grisella* are found (Arlettaz *et al.* 2001). Finally, we note a recent laboratory experiment showing that the level of attention by substrate-gleaning bats for *A. grisella* males signaling within an aggregation increases only slightly as the number of males joining the aggregation expands (S. Alem, B. Siemers, K. Koselj, unpublished data), evidence supporting the dilution effect in anti-predator behaviour in this species.

Based on the biology of *A. grisella* presented above, we began our study with a simple laboratory experiment testing whether signaling males are more likely to exhibit a silence response to synthetic echolocation stimuli when solitary than when aggregated. We then proceeded to test whether masking or general interference occurs between the signals of neighbouring males and those of echolocating bats. A final experiment examined the specificity of the silence response to stimuli representing bat echolocation signals as opposed to general noise. We used our results, taken alone and in conjunction with other findings on interactions between *A. grisella* and insectivorous bats, to evaluate the subtle modulation of sexual and anti-predator behaviour that may occur in a social context.

Materials and Methods

1. Natural history and acoustic behavior of *Achroia grisella*

A. grisella are symbionts of the western honeybee (*Apis mellifera*), and are found in most geographic regions of the world where these bees are raised (Künike 1930). The moth larvae feed on comb and organic detritus of honeybee colonies, and they are more commonly associated with declining colonies that have relatively low populations of worker bees. Adult *A. grisella* generally remain in small aggregations in the vicinity of their natal colony, and mating takes place at the colony or on surrounding vegetation (Greenfield & Coffelt 1983).

The moths have atrophied mouthparts and consequently do not feed or drink. In laboratory populations male and female adults typically survive 14 and 7 d, respectively. Males begin broadcasting their advertisement call shortly after the adult moult, and they generally sing 6-10 h each night until death. Females also become sexually receptive following the adult moult, normally mate once, and become refractory afterwards. Males, however, may mate as much as once every 24 h throughout their adult lifespan (Brandt & Greenfield 2004).

Male *A. grisella* generate their calling song while remaining stationary on the substrate and beating their wings at approximately 45 cycles·s⁻¹ (at 25°C) (Spangler *et al.* 1984). This activity causes a pair of tymbal structures at the bases of the front wings to resonate, once on each upstroke and once on each downstroke of the wings. Each resonance yields a brief ($\approx 100 \mu\text{s}$) pulse of greatly damped, high-frequency sound (70-130 kHz) broadcast at 90-95 dB SPL (0 dB = 20 μPa), measured at 1 cm from the moth. Because the beating of the left and right wings is not perfectly synchronous, a pair of sound pulses separated by a brief silent interval is normally produced during each upstroke and downstroke. Thus, a typical male song is represented by a train of pulse pairs delivered at a rhythm of 90·s⁻¹.

Male song rhythm may vary considerably among individuals within an *A. grisella* population (Jang & Greenfield 1996). Females generally prefer faster song rhythms, and they also exhibit a threshold response in which they will not orient toward a song delivered at a rate below a minimum value, 20-50 pulse-pairs·s⁻¹, depending on the population (Brandt *et al.* 2005). This threshold response in female orientation may be a means of avoiding inappropriate activity when exposed to searching phase echolocation signals of insectivorous bats foraging nearby. These latter signals are nearly always broadcast at relatively slow rates, 10-30·s⁻¹.

Male *A. grisella* respond acoustically to other males in their aggregation in several ways. A male who is silent may begin singing immediately after a neighbour begins to sing (Greenfield & Coffelt 1983), and a male who is already singing may increase his pulse-pair rhythm by 5-10% for 10-15 min when a neighbour within 20-30 cm initiates his song (Jia *et al.* 2001). When exposed to synthetic bat echolocation stimuli perceived above a threshold amplitude, most *A. grisella* males become silent (Greenfield & Baker 2003). This silence response begins following a brief latency (30-70 ms, measured from stimulus onset), lasts for the duration of the echolocation stimuli, and may continue afterwards in some males.

2. Population studied

We studied a laboratory population of *A. grisella* derived from several hundred individuals collected at infested honeybee colonies in Département Indre et Loire, France (47°19'N, 0°46'E) in October 2007. The insects were reared on a synthetic diet (Jang & Greenfield 1996) and maintained in an environmental chamber kept at 25°C and a 12:12 L: D photoperiod. Generation time averaged 45 d under these conditions, and our experiments spanned 4 generations.

3. General experimental protocol

Our general procedure consisted of exposing a singing *A. grisella* male to synthetic bat echolocation stimuli alone or in conjunction with male song, the latter represented by either live neighbours or recordings, and monitoring the incidence and duration of a silence response in the male. Test males were kept in individual screen cages (2.0 cm diam., 2.5 cm height) situated on a turntable, which allowed us to gently rotate a male to a position below and in front of the stimuli. Previous experiments had demonstrated that males sang normally within these cages, and the screen did not affect the acoustic features of the transmitted song. To replicate circumstances that might occur naturally, we presented the echolocation stimuli from an overhead loudspeaker, while live males or a loudspeaker broadcasting recorded male song were presented from the side of the test male. All tests were conducted within an acoustically insulated chamber maintained under conditions identical to the chamber used for rearing.

To ensure a standard physiological and behavioural status in all test males, we used only unmated individuals who were 1-3 d old. Testing was done during the first 6 h of the (photoperiodic) night, the natural period of mating activity in *A. grisella*. Individual males were subjected to multiple trials in each of the three experiments comprising this study, and we avoided habituation by spacing an individual's successive trials a minimum 30 min apart and presenting stimuli for very short durations only. Between a given male's successive trials, he was shielded from the stimuli being presented in trials of other test individuals by acoustic insulation foam that surrounded his cage.

We monitored the singing of all test males, and, when deployed, of the neighbouring males representing a conspecific song stimulus, with an ultrasound (bat) detector (Ultrasound Detector D230; Petterson Elektronik AB; Uppsala, Sweden), and we only initiated a trial

when the males were singing regularly. During an actual trial, we recorded the test male's singing with a condenser microphone (model CM16/CMPA; Avisoft Bioacoustics; Berlin, Germany; frequency response $\pm 3\text{dB}$, 20-150 kHz) and saved a 12-18-s segment of the recording, beginning 3 s before stimulus onset and stopping 6 s after its end, to a digital file on a notebook computer. A signal processing program (Recorder; Avisoft Bioacoustics) installed on that notebook computer afforded real-time monitoring and thereby allowed us to verify that the test male was singing until the precise onset of the stimulus. Our microphone recordings detected both the test male's singing and the presented stimuli and, moreover, distinguished them. Thus, we could determine the latency and duration of a male's silence response from measurements of the digital file, except in those cases where the silence response continued more than 6 s after the end of the stimulus (Figure 1).

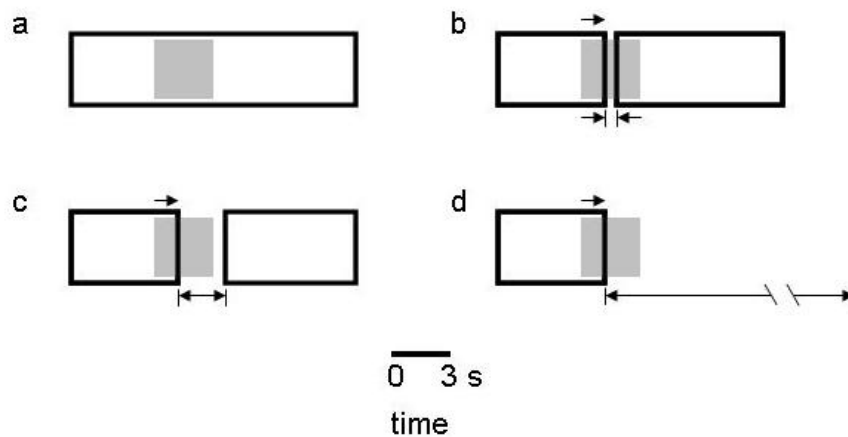


Figure 1- Possible responses of males during and following presentation of a synthetic bat echolocation stimulus. Open rectangle represents the male's song emission during recording, and filled rectangle indicates the 3-s echolocation stimulus. Arrows above rectangles indicate latency of silence response, and double arrows below rectangles indicate length of silence response. a) no silence response; the test male does not cease singing for an interval > 100 ms during or following the echolocation stimulus. b) silence response < 500 ms in length during the echolocation stimulus. c) silence response > 500 ms in length that begins during the echolocation stimulus but terminates before the end of the recording, 6 s following the end of the stimulus. d) silence response that begins during the stimulus and continues after the end of the recording. Break in double arrow below rectangle indicates indeterminate length of silence response. Silence responses in a, b, c, and d correspond with the 4 response levels in experiments 1-3.

We designated a silence response as an interruption in a male's singing ≥ 100 ms during broadcast of a stimulus. This criterion was used because it spanned approximately 4 complete cycles of a male's wing movements, or 8 pulse-pairs. We therefore minimized the risk of considering spontaneous gaps lasting 1-2 pulse pairs, which are occasionally observed in isolated males that are otherwise singing regularly, as responses to experimental stimuli.

4. Synthetic stimuli

Our synthetic bat echolocation stimulus was a train of identical 2.5-ms pulses delivered at 15 pulses \cdot s $^{-1}$ (Figure 2a; also see Greenfield & Hohendorf 2009). The frequency of each pulse was modulated to descend from 90 kHz to 30 kHz over its duration. Thus, the overall signal resembled the 'downward frequency sweeps' characteristic of the searching phase emissions broadcast by many species of Old World substrate gleaning bats (see Neuweiler 2000). The geographic origin of *A. grisella* was most probably in the regions of Africa and western Asia where *Apis mellifera* evolved, and the moths would have co-evolved with the local bat fauna and developed certain anti-predator responses toward them. But no bat species is known to specialize on *A. grisella*, and we therefore chose to use a 'generic' stimulus rather than a stimulus representing a particular species.

We created the echolocation stimulus pulses with a digital sine wave generator operated at samples 214,285 \cdot s $^{-1}$, edited the temporal and frequency characteristics of the pulses with signal processing software (CoolEdit, version 1.53; Syntrillium, Phoenix, Arizona, USA), and saved a train of edited pulses to a digital file. To broadcast the echolocation stimulus to a test male, we used a separate signal processing program (BatSound Pro 4.0; Petterson Elektronik AB) to continuously 'loop' the digital file on a computer and output the looped file to a digital: analog converter (DAQcard 6062E; National Instruments, Austin, Texas, USA). We operated the converter at 16 bits and 214,285 samples \cdot s $^{-1}$ and sent the analog signal to the overhead loudspeaker (model ScanSpeak; Avisoft Bioacoustics; frequency response ± 2 dB, 60-110 kHz).

The stimulus representing a lek of neighbouring *A. grisella* males (Figure 2b) was created from a recording of 3 males from our laboratory population singing together within a small screen arena. We recorded the males with a condenser microphone (model CM16/CPMA; Avisoft Bioacoustics; frequency response ± 3 dB, 20-150 kHz), digitized the recording at 500,000 samples \cdot s $^{-1}$ (model Ultrasound Gate 416-200; Avisoft Bioacoustics) and

saved the digitized recording to a computer file. As above, we broadcast the male lek stimulus by continuously looping the digital file on a computer, converting the looped file to an analogue signal at $214,285 \text{ samples}\cdot\text{s}^{-1}$, and sending the analogue signal to the loudspeaker situated horizontally.

A noise stimulus (Figure 2c) was created with the digital signal generator operated at $214,285 \text{ samples}\cdot\text{s}^{-1}$ and adjusted to yield frequencies ranging from 0.2 - 110 kHz and an overall spectral profile characteristic of white noise. We saved the noise stimulus to a computer file and broadcast it from the overhead loudspeaker in the same fashion as the echolocation stimulus.

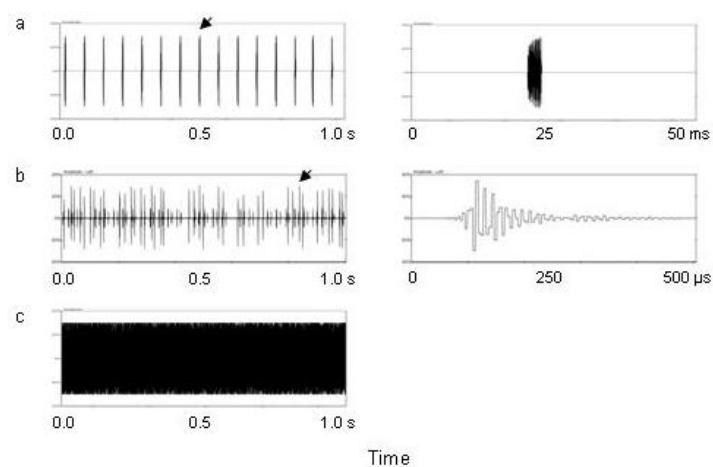


Figure 2 - Oscillograms of stimuli presented in Experiments 1-3. a) Synthetic bat echolocation stimulus; a single echolocation signal, indicated by arrow, is enlarged in the graph to the right. b) Song stimulus, represented by a single-channel recording of 3 (lekking) males; a single pulse, indicated by arrow, is enlarged in the graph to the right. c) Noise stimulus. For playback, peak amplitudes of all stimuli were adjusted to an equivalent SPL = 90 dB, as perceived at the location of the test male.

In presenting all stimuli, we adjusted the amplitude of the broadcast with the gain control on an amplifier regulating the loudspeaker. Thus, we adjusted the amplitudes of the echolocation stimulus, the lek stimulus, and the noise stimulus to 90 dB SPL, as measured at the location of the test male. Adjustments were made with a sound pressure level meter (model 1982; General Radio, Concord, Massachusetts, USA) and relied on the method of ‘peak equivalents’ (see Jang and Greenfield 1996). We note that the amplitude of the bat stimulus represented a substrate gleaning bat 1 m distant in the air (see Waters & Jones 1995; Brinklov *et al.* 2009), while the amplitude of the lek stimulus represented a group of singing

males 2 cm distant on the same surface. This latter separation is often observed between *A. grisella* males engaged in bouts of singing.

Experiment 1. Do lekking males reduce their anti-predator response?

We began our study with a simple test of the silence response of males when they were singing alone versus in a group of 4. We tested 29 males, half of whom were tested first while solitary and second while in a group, and half who were tested in the reverse sequence. For a given testing session (day), we arranged 4 males in individual screen cages along the circumference of the turntable within the acoustic test chamber. The males were situated along the 4 cardinal directions with respect to the center of the turntable, placing each of them 10 cm distant from its two adjacent neighbours. A sheet of acoustic insulation foam 25 cm above the turntable floor shielded the males from echolocation stimuli broadcast from the overhead loudspeaker when they were not themselves being tested. Thus, the males, already situated on the turntable, continued to sing before and after their own trials. A 10 cm circular hole was made in the foam sheet directly below the overhead loudspeaker, and we rotated the turntable to situate a male directly below the loudspeaker for his trial. At this position, the hole in the foam sheet exposed the male to the broadcast of the echolocation stimulus. For a male's trial in the solitary mode, we temporarily placed an additional shield of acoustic foam around his cage to block the calls of the three other males on the turntable (Figure 3). This shield was placed 30 min prior to broadcasting the stimulus to ensure that the test male had adapted to being alone. For trials in the lekking mode, we simply ensured that the test male and his three neighbours were all singing. In all trials the echolocation stimulus was presented for 3 s.

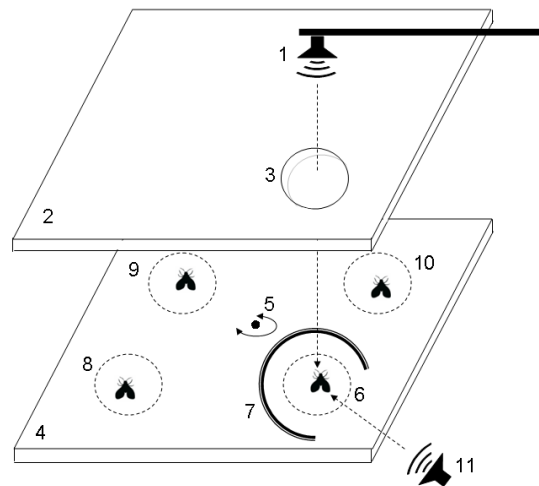


Figure 3 - Apparatus used for testing responses of singing *A. grisella* males to synthetic bat echolocation signals in Experiments 1-3. 1: overhead loudspeaker broadcasting bat echolocation signals; 2: horizontal shield of acoustic foam with hole (3) permitting transmission of echolocation signal to moth directly below; 4: platform mounted on a turntable such that it rotates around its central axis (5); 6: screen cage holding singing male *A. grisella*; 7: acoustic foam barrier that prevents focal male from hearing his neighbors (8, 9, 10); 11: laterally positioned loudspeaker used to broadcast a recording of an *A. grisella* lek in Experiments 2 and 3.

Experiment 2. What is the role of signal masking in attenuating the anti-predator response?

Given the finding that male *A. grisella* significantly reduce their silence response to a predator stimulus when in a lek (see Results), we then asked whether this reduction reflected the behavioural state that lekking males assume, the masking of the predator stimulus by the songs of neighbouring males, or both. In this experiment we replaced the stimulus represented by live males surrounding the test individual in experiment 1 with the broadcast of a recording of a lek of 3 singing males. Thus, males in the lekking mode were always exposed to the identical song stimulus. We tested 32 males with 4 trials each and used the apparatus and arrangement of males employed in experiment 1 save that an acoustic foam shield surrounded each test male on three sides and was kept in place at all times. This shield effectively prevented a male from hearing his three neighbours awaiting their trials while on the turntable and the song stimulus broadcast from the laterally positioned loudspeaker,

except when he was rotated into position for one of his trials. At this time he became exposed to the overhead echolocation stimulus and the lateral song stimulus.

The set of 4 trials included presentation of 1) the song stimulus for 6 s, 2) the echolocation stimulus for 3 s, 3) the song and echolocation stimuli presented simultaneously for 3 s and 4) the song (6 s) and echolocation stimulus (3 s) presented sequentially, with the second stimulus immediately following the first. Trial 1 afforded us baseline information on a singing male's response to male song following a silent period, trial 2 replicated the solitary mode trials in experiment 1, trial 3 replicated the lekking mode trials in Experiment 1, and trial 4 offered the opportunity to evaluate the role of masking in attenuation of the silence response during the lekking mode. If masking were a strong influence, we would expect test males to continue singing in trial 3 but not in trial 4, where the echolocation signal was presented without physical interference from the song stimulus. On the other hand, if the male's social milieu and competition with neighbours were a major factor, we would expect continued singing in both trials 3 and 4: In the latter case, the initial exposure to the song stimulus may prime the male for a competitive behavioural state, which might continue following the end of this stimulus and entail a reduced tendency to respond to predator cues, as represented by the second, echolocation stimulus. The order of the 4 trials was randomized for each of the test males.

Experiment 3. What is the specificity of the silence response to predator cues?

Whereas *A. grisella* display distinct responses to synthetic echolocation stimuli that could be interpreted as anti-predator behaviour, we note that the acoustic power (= amplitude integrated over time, as determined by a root-mean-square measurement of amplitude taken over the entire stimulus duration) of the echolocation stimulus used in the previous experiments is 4 times greater than that of the song stimulus. This difference arises because the amplitude of the echolocation stimulus remains relatively constant over its 2.5-ms length (Fig. 2a), whereas the individual sound pulses in the song stimulus are highly damped, their amplitude descending to 50% of the peak level after only $\frac{1}{4}$ of the pulse length has elapsed (Fig. 2b). We therefore conducted a third experiment designed to distinguish whether the observed silence responses represented specialized anti-predator behaviour or general response to 'noise'. We tested 32 males with 4 trials each and employed the apparatus,

arrangement of males, and experimental design employed in Experiment 2 save that both the echolocation and noise stimuli were broadcast from the overhead loudspeaker. As in Experiment 2, both stimuli were delivered with the same peak amplitude. However, the noise stimulus, being continuous (Fig. 2c), greatly exceeded the echolocation stimulus in acoustic power.

The set of 4 trials included presentation of 1) the echolocation stimulus for 3 s, 2) the noise stimulus for 3 s, 3) the noise stimulus for 3 s followed immediately by the echolocation stimulus for 3 s and 4) the echolocation stimulus for 3 s followed immediately by the noise stimulus for 3 s. Trials 1 and 2 addressed the fundamental question of whether the observed silence responses (in Experiments 1 and 2) were simply general responses to acoustic power, which would be supported by observing silence responses to both the echolocation and noise stimuli. If males continue singing when exposed to the noise stimulus, indicating that silence responses to echolocation stimuli do represent specialized anti-predator behaviour, trial 3 would test whether males show sensory adaptation to background noise that influences their sensitivity to respond subsequently to predator stimuli. In a similar fashion, trial 4 would further test the level of discrimination of predator and noise stimuli by examining the rapidity with which males resume singing following exposure to echolocation stimuli. The order of the 4 trials was randomized for each of the test males.

Results

Experiment 1. Do lekking males reduce their anti-predator response?

We observed a marginally reduced incidence and a significantly shorter duration of silence responses by males in the presence of singing neighbours. All 29 test males exhibited a silence response during their trial in the solitary mode, whereas 5 of the males continued singing without interruption during their trial in the lekking mode (McNemar test, $X^2 = 3.2$, $P = 0.074$; Fig. 4). The test males exhibited longer silence responses during their trials in the solitary mode (Wilcoxon matched-pair signed-rank test, $Z = -2.497$, $P = 0.013$; Fig. 5a). These silence responses were also initiated following significantly shorter latencies (Fig. 5b), measured from the onset of the stimulus, as compared with responses during the lekking mode (Paired t-test, $t = -2.335$, $P = 0.027$; test employed following confirmation of normality

and equality of variance). We then distinguished between 4 levels of response (see Fig. 1) based on the duration of silence: 1) no interruption of singing, 2) a silence response < 500 ms, which might be interpreted as an acoustic startle response (sensu Hoy 1989), 3) a silence response \geq 500 ms but resumption of singing before the end of the recording (9 s from the onset of the 3-s echolocation stimulus) and 4) a silence response \geq 500 ms and no resumption of singing before the end of the recording. Results categorized by these 4 levels are shown in Figure 4.

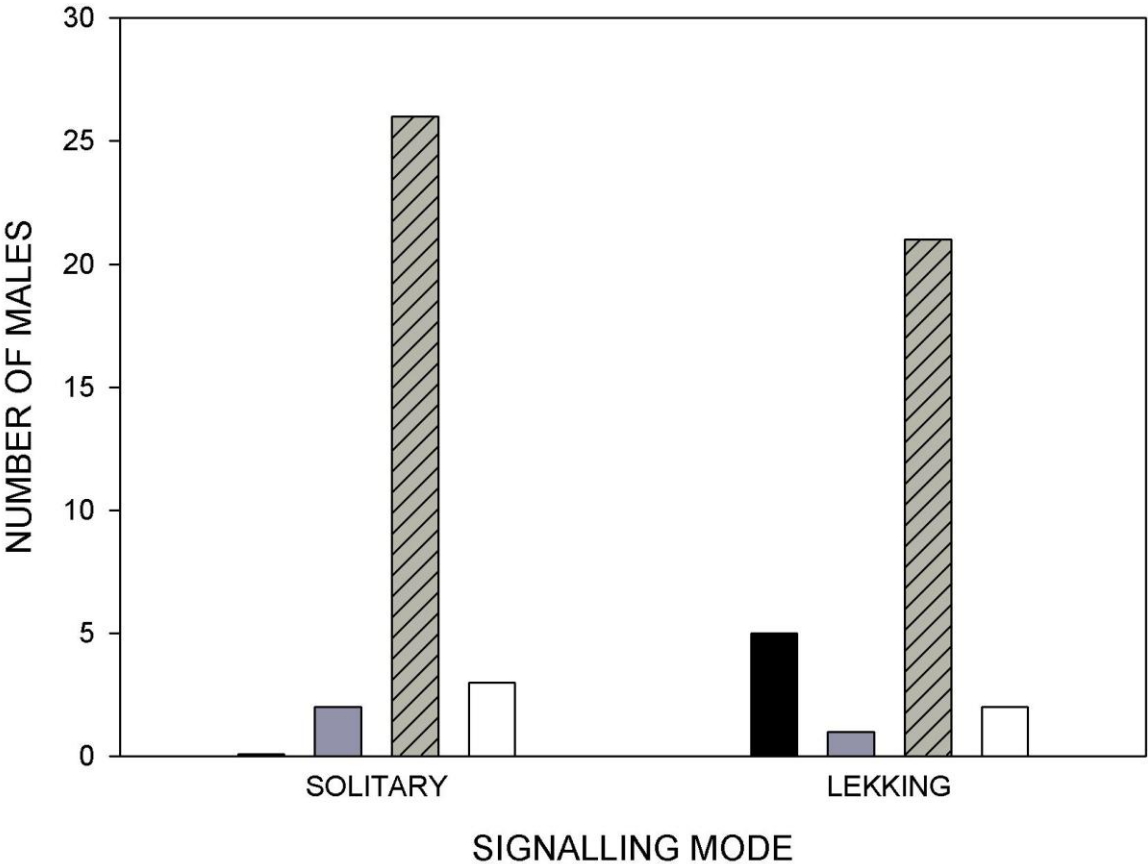


Figure 4 - Signalling mode

Experiment 2. What is the role of signal masking in attenuating the anti-predator response?

Consistent with results from previous studies (Greenfield & Baker 2003, Lafaille *et al.* 2010), we observed a significantly higher incidence of silence responses of any length, and of silence responses ≥ 500 ms, when males were presented with the echolocation stimulus (trial 2) than with the conspecific song stimulus (trial 1) (McNemar test, $X^2 = 16.06$ and 14.06 , respectively, $P < 0.001$; Fig. 6). And consistent with the results reported above in Experiment 1, the incidences of silence responses of any length, and of silence responses ≥ 500 ms, were significantly higher to the echolocation stimulus alone (trial 2) than to the simultaneous playback of the echolocation and song stimuli (trial 3; McNemar test, $X^2 = 4.267$ for both tests, $P = 0.039$). We do note, however, that the overall incidence of silence responses to bat echolocation signals in Experiment 2 was lower than that observed in Experiment 1 (cf. Fig. 6, trials 2 and 3, with Fig. 4). This difference may reflect an inter-generation change in behaviour or higher SPLs in loudspeaker broadcasts than in live males, as conditions otherwise remained comparable between Experiments 1 and 2.

Comparing the responses to the sequential playback of the song stimulus followed by the echolocation stimulus (trial 4) with the responses to the echolocation stimulus alone (trial 2) or broadcast simultaneously with the song stimulus (trial 3), we observed an intermediate incidence of silence responses of any length (17 versus 21 and 12 responses, respectively), and of silence responses ≥ 500 ms (15 versus 19 and 10 responses, respectively) (Fig. 6). In general, however, these intermediate levels did not differ significantly from the levels of response to either the echolocation stimulus alone or the simultaneous broadcast of the echolocation and song stimuli. The only significant difference was found in the comparison of silence responses ≥ 500 ms to the sequential and simultaneous playbacks (McNemar test, $X^2 = 4.167$, $P = 0.041$; P-values for all other comparisons exceeded 0.15).

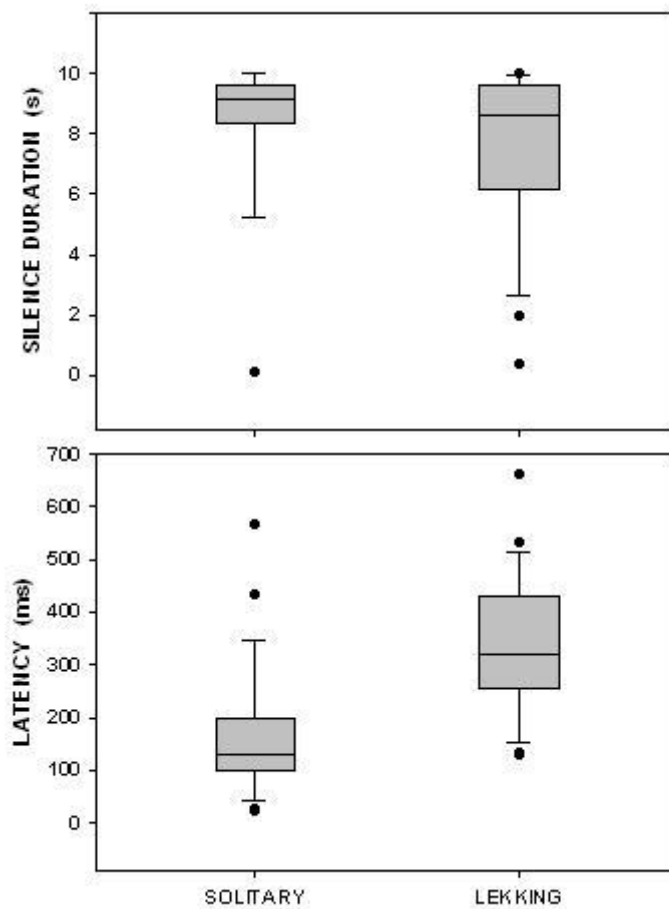


Figure 5 - Duration (a) and latency (b) of silence responses in Experiment 1. Box plots indicate median (solid black line), 25-75% range (box), 10-90% range (whiskers), and outliers for 2 signalling modes

Experiment 3. What is the specificity of the silence response to predator cues?

Our findings corroborated earlier studies indicating that silence responses in male *A. grisella* were made to stimuli having certain of the characteristics of bat echolocation signals and not to general high-frequency sound. Comparing results from trials 1 (echolocation stimulus) and 2 (noise stimulus), we observed that while males exhibited the same incidence of silence responses of any length to both stimuli (McNemar test, $X^2 = 1.455$, $P = 0.228$; Fig. 7), the durations of the silence responses were much longer in response to the echolocation stimulus: We observed that 11 of the 32 males never resumed singing during the recording, which lasted until 6 s following the end of the stimulus, in response to the echolocation stimulus, whereas all males had done so in response to noise (McNemar test, $X^2 = 0.091$,

$P = 0.003$). The overall incidence of silence responses to bat echolocation signals in Experiment 3 was comparable to that observed in Experiment 2 (cf. Fig. 7, trial 1 with Fig. 6, trial 2)

Results from trial 3 (3 s of noise, followed by a 3-s echolocation stimulus) indicated that male *A. grisella* experience a level of sensory adaptation to noise that affects their subsequent sensitivity to predator cues (Fig. 7). Of the 13 males that initiated a silence response during the noise stimulus, only 5 were still silent at the onset of the echolocation stimulus. Two of these 5 males resumed singing during the echolocation stimulus, one resumed shortly after the echolocation stimulus, and the remaining two had not resumed by the end of the recording, 6 s after the end of the echolocation stimulus. No males who had continued singing throughout the noise stimulus initiated a silence response during the echolocation stimulus. The incidence of lengthy silence responses, continuing beyond the end of the recording (response level 4), was significantly lower in trial 3 than in trial 1 (echolocation stimulus only) (McNemar test, $X^2 = 5.82$, $P = 0.016$).

Results from trial 4 (a 3-s echolocation stimulus, followed by 3 s of noise) suggest that exposure to general high-frequency sound following predator cues may also influence how *A. grisella* males continue their response to those cues (Fig. 7). A total of 19 males initiated a silence response during the echolocation stimulus, and 14 were still silent when the noise stimulus began. All 14 of these males resumed singing during the noise stimulus or within 3 s of its end. An additional 4 males who had continued singing during the echolocation stimulus initiated a silence response during the noise stimulus. These responses were all relatively short, and none of the 4 males remained silent until the end of the noise stimulus (response level 4). On the other hand, we note that when presented with the echolocation stimulus alone (trial 1), 11 of the 20 males that initiated a silence response were still silent 6 s after the end of the stimulus (McNemar test, $X^2 = 8.10$, $P = 0.004$).

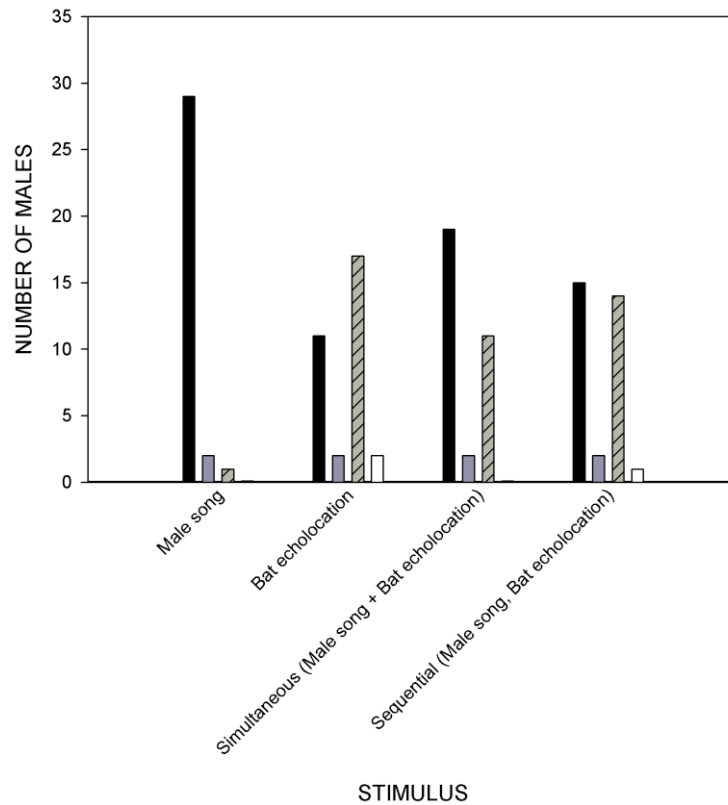


Figure 6 - Incidence of the four different levels of response (see Fig. 1) exhibited by test males presented with the male song stimulus and/or the synthetic bat echolocation stimulus in Experiment 2. For each stimulus category, solid black bar indicates continued singing (response level 1), solid grey bar indicates an interruption of singing < 500 ms in length (level 2), diagonally-lined grey bar indicates an interruption ≥ 500 ms but that terminates before the end of the recording (level 3), and open bar indicates silence that continues beyond the end of the recording (level 4).

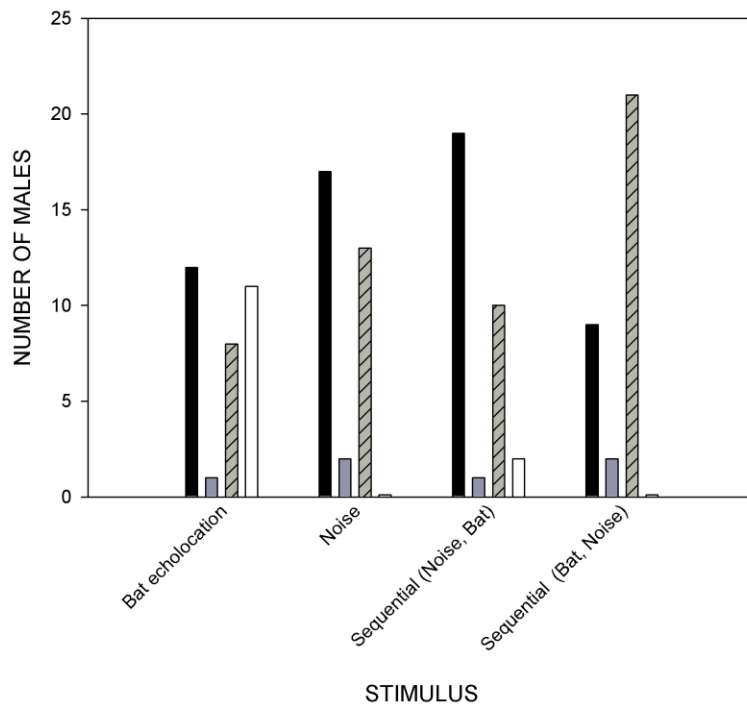


Figure 7 - Incidence of the four different levels of response (see Fig. 1) exhibited by test males presented with the synthetic bat echolocation stimulus and/or the noise stimulus in male Experiment 3. For each stimulus category, solid black bar indicates continued singing (response level 1), solid grey bar indicates an interruption of singing < 500 ms in length (level 2), diagonally-lined grey bar indicates an interruption \geq 500 ms but that terminates before the end of the recording (level 3), and open bar indicates silence that continues beyond the end of the recording (level 4). For the two sequential stimulus categories, response levels 2, 3, and 4 represent interruptions that may begin and/or end during either the first or second stimulus; details are given in the Results.

Discussion

As reported in previous studies of *A. grisella* (Greenfield & Baker 2003, Greenfield & Hohendorf 2009, Lafaille *et al.* 2010), most singing males exhibited a prolonged silence response to loudspeaker broadcasts imitating the echolocation signals of insectivorous bats. However, the incidence and duration of this response were strongly attenuated, and the latency was lengthened, in the presence of either singing male neighbours or the added broadcast of male song. This finding could result from simple physical masking of the

echolocation stimuli by the songs of neighbouring males or from an agitated behavioural state induced by competition with those neighbours. Results from Experiment 2 suggest that both factors may operate: The incidence and duration of silence responses to the presentation of male song followed sequentially by echolocation stimuli (trial 4) was intermediate between the responses to the simultaneous presentation of both stimuli (trial 3; reduced response level) and to the presentation of the echolocation stimuli alone (trial 2; elevated response level). We also note that results from another study (S. Alem, B. Siemers, K. Koselj, unpublished data) indicate that a third factor, a lower risk of per capita attack when in a group owing to dilution of predation pressure, may account for the attenuated level of the silence response in the presence of male song: Substrate gleaning bats (*Rhinolophus ferrumequinum*) showed only a slightly higher level of attraction toward and interest in groups of singing *A. grisella* males as group size increased three-fold. If a bat arrives at a group and attacks one male, we infer that neighbouring males will respond to the general disturbance and immediately become silent. This option for anti-predator defence would not be available to males singing alone, and greater caution, including a higher incidence of silence responses to bats foraging in the vicinity, would be expected.

The previous studies noted above interpreted silence responses to stimuli imitating echolocation signals as specialized anti-predator behavior, and results from Experiment 3 are consistent with this interpretation: *A. grisella* males discriminate strongly between general high-frequency noise and the descending frequency sweeps that are characteristic of echolocation signals of many species of gleaning bats. Males showed the same levels of initiation of silence in response to either stimulus (trials 1 and 2), but extended silence (response level 4) was only observed in response to the echolocation stimulus. These results suggest that high-frequency sound perceived above a threshold amplitude or acoustic power may release an acoustic startle response (sensu Hoy 1989), which is either curtailed or extended depending on the characteristics of the signal. The characteristics that evoke an extended response are probably the rhythm and length of sound pulses and the inter-pulse intervals. Sound amplitude per se is unlikely to be a factor, as both the noise and echolocation stimulus were delivered at the same peak amplitude. But results from Experiment 3 (and 2) also indicate that a substantial percentage of *A. grisella* males did not respond at all to the echolocation stimulus. This apparent absence of defensive behaviour may reflect different response levels to the cues of different predators. We note that recent findings from another study (S. Alem, B. Siemers, K. Koselj, unpublished data) indicated stronger responses by *A.*

grisella to constant frequency echolocation signals (of a gleaning bat species) than to the frequency sweeps tested here.

Other results from Experiment 3 indicate that the silence response to predator cues is influenced by sensory adaptation to noise. *A. grisella* males are much less likely to remain silent for an extended interval following the echolocation stimulus if they have previously been exposed to the noise stimulus (trial 3). Sensory adaptation may also influence silence responses that have already been released by the echolocation stimulus: The males are more likely to resume singing following the echolocation stimulus if that stimulus is followed immediately by the noise stimulus (trial 4). Some of these indications of sensory adaptation may be reconciled with expectations in natural populations. A greater propensity to sing, or to resume singing, when background noise levels are high could be adaptive because insectivorous bats might not perceive male song clearly in such an acoustic environment.

Could sensory adaptation also explain the lower (intermediate) response level to the echolocation stimulus when it follows the male song stimulus (Experiment 2, trial 4)? Here, adaptation is doubtful given that peak amplitudes, as perceived at the location of the test male, of the song and echolocation stimuli are equivalent (Fig. 2a,b), and acoustic power of the song stimulus is considerably lower. Similarly, the greatly reduced response level to the echolocation stimulus when it is presented simultaneously with the song stimulus (Experiment 2, trial 3) is also unlikely to result from sensory adaptation: The addition of the song stimulus to the echolocation stimulus does not increase peak amplitude substantially (SPL increases by ≈ 2 dB if a male song pulse and a synthetic bat echolocation happen to overlap) or even acoustic power (≈ 15 % increase) of the combined stimulus.

Given that the song stimulus is equivalent to the echolocation stimulus in peak amplitude and somewhat lower in acoustic power, we then ask how the proposed masking effect might operate? One possibility is that the presence of the song stimulus, which represents a group of 3 males and is thereby delivered at > 100 pulse-pairs \cdot s $^{-1}$ (Fig. 2b), prevents the male from clearly recognizing the slow rhythm (15 pulses \cdot s $^{-1}$) of the echolocation stimulus. Previous studies have shown that a slow pulse rhythm is a key feature releasing anti-predator responses in male and female *A. grisella* when they are not in flight (Greenfield & Weber 2000; Greenfield & Baker 2003).

Overall, our findings and reflections have several implications for the fine-tuning of life history tradeoffs between current reproduction and future survival. First, we emphasize that the social milieu needs to be accounted for when predicting how an individual may apportion its energy between current and future alternatives and set its acceptance of risk at an appropriate level. Second, we note that the fine tuning of these tradeoffs may be mediated through several mechanisms. Often, these several mechanisms may happen to work in concert, as inter-male competition, dilution of the risk of predation, and physical masking of predator cues all increase as more males join an *A. grisella* lek and signal. Here, the predicted – and observed – outcome is clear: anti-predator responses are reduced in favour of sexual advertisement when in a lek. In general, however, experiments are needed to determine the relative contributions of the potential mechanisms. On the other hand, in some cases one or more mechanisms might conceivably work in opposition, and the outcome of a social influence on behavioural tradeoffs would be much less predictable. For example, in some species males may initiate spontaneous silence responses to monitor their neighbors' activities more clearly (Greenfield 1990; Faure & Hoy 2000). If these spontaneous responses increase in higher density, any decrease in anti-predator behaviour by lekking males would be obscured. Third, we suggest that general cognition (Dukas & Ratcliffe 2009), including potential limitations on attention, should be considered in evaluating how individuals arrive at decisions and modify their behaviour. We have assumed that lekking males may reduce anti-predator behaviour simply because the signals of neighbours physically mask predator cues, but we also need to entertain the possibility that lekking males do this because they cannot simultaneously attend to both rival neighbours and natural enemies whether or not conspecifics and predators use the same channel. Both physical masking of cues and central cognitive limitations on general attention represent constraints and as such could potentially interfere with a trade-off decision predicted by predation intensity, inter-male competition, and mating opportunities. Thus, we ask whether masking and limited attention can be overridden or circumvented when the economics of survival and sexual selection predict that a lekking male should attend to predator cues and cease signaling. As with many problems in animal behaviour, understanding how this conflict might be resolved will demand the perspectives of both adaptation, including its inherent economics, and the physics, physiology, and cognition that comprise sensory perception and constrain it.

Acknowledgements

We thank Guy Bourdais, Bruno Brizard, and Fabrice Vannier (I.R.B.I., Tours, France) for technical assistance in the laboratory, Jean-Pierre Chartier for helping us to collect our population of *A. grisella*, and the Agence Nationale de la Recherche de France (contrat ANR-07-BLAN-0113-01), the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), the Université François Rabelais de Tours, and the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia de Mexico (CONACYT; beca 197659 to OB) for their financial support. We also thank Marlène Goubault, Denis Limousin, and 2 anonymous referees for valuable criticisms of an earlier version of this manuscript.

Partie 2

Compétition male-mâle et choix de
partenaire au sein d'un chorus chez
Ephippiger diurnus

Résumé

Le choix de partenaire chez la sauterelle *E. diurnus* a lieu au sein d'un chorus, un contexte où les individus rencontrent des problèmes pour distinguer et discriminer les signaux de leurs congénères. Nous avons étudié les préférences des femelles et les interactions des mâles dans ce contexte en évitant l'influence d'autres stimulus de l'ambiance naturelle. Nous avons reproduit une ambiance acoustique semblable au chorus, avec des groupes de 4 mâles vivants, placés dans une arène où les femelles ont pu réaliser leur choix de partenaire librement. Par rapport aux ajustements réalisés pendant les interactions, les traits acoustiques *relatifs* des mâles évalués étaient: le rythme, le nombre de syllabes et les chants émis en premier. Un test de régression logarithmique a montré une forte préférence des femelles pour les chants émis en premier, plus significative que celle montrée dans les tests à deux voies. L'effet de la priorité, est un phénomène bien connu au sein d'un chorus. L'émission des chants en premier a tendance à être plus représentée par un mâle parmi les autres mais cette condition n'est pas permanente. La temporalité des divers intervalles dans les interactions est fréquente. Dans ce système tous les traits impliqués dans les interactions intrasexuelles et intersexuelles sont relatifs à ce que font les autres. L'attention sélective joue un rôle prépondérant chez les mâles qui répondent plus à un ou deux de leurs voisins. Les participations observées sont un chorus de 2 ou 3 mâles plus participatifs et quelque fois un seul individu se limite à chanter. Nous suggérons que l'inhibition de l'émission du chant à certains intervalles et la *période de silence* permet aux femelles de distinguer les contrastes entre les chants alternés et les chants émis en premier-en deuxième. A chaque émission, les mâles sont en face d'une circonstance acoustique différente et sont face à un dilemme pour produire un cycle qui maintient le dynamisme et la temporalité des interactions. Nous proposons que la phonotaxie positive envers les chants en premier amène l'espèce vers un système de chorus de type mixte, qui va de l'alternance vers une synchronie imparfaite.

Introduction

Quand les animaux vivent en groupe les individus rencontrent des problèmes spécifiques de communication. Chez les espèces acoustiques dont l'appel se réalise en chorus,

il y a des problèmes qui doivent se présenter. D'une part l'augmentation de la compétition pour l'attraction (West-Eberhard, 1984), et d'autre part des problèmes d'interférences avec plusieurs sources de leur environnement (Römer *et al.*, 1989 ; Schwartz et Gerhardt, 1989). En conséquence, le sexe choisissant doit d'être capable de détecter, reconnaître et rencontrer les individus plus attractifs parmi d'autres, et cela dans un milieu avec des interférences acoustiques diverses (Nitayananda et Bee, 2012). Pour cela, la sélection sexuelle peut être un facteur important chez beaucoup d'animaux chantant en chorus. Dans un tel scénario et du point de vue de l'individu, on pense aux situations qu'affrontent les femelles et les mâles pendant la recherche des partenaires où elles sont exposées à plusieurs mâles chantant situés à proximité (Richardson *et al.* 2008), les femelles devront faire face aux stimuli qui appartiennent aux caractères du chant *perse* et en même temps aux stimuli relatifs qui correspondent aux interactions acoustiques entre les partenaires potentiels. Les mâles, de leur côté, doivent être attentifs aux chants de leurs voisins pour agir en conséquence sur leur manière de chanter afin d'attirer les femelles. Dans le contexte de sélection sexuelle, la communication animale est évidemment impliquée dans ce processus de choix de partenaire. Plusieurs études ont démontré que les individus, fréquemment les femelles, ont une préférence pour certains caractères du signal. Néanmoins, démontrer un tel choix dans des expériences de choix simple qui comprennent seulement la discrimination entre deux stimuli ou deux individus diffère beaucoup de la situation naturelle où les femelles utilisent ces critères lorsqu'elles doivent choisir parmi tous les mâles vivants au sein d'un regroupement (*e.g* Alem, *et al.*, 2011). Dans ce dernier schéma, les divers caractères du signal peuvent interagir dans des formes complexes que l'on ne peut pas prédire par des expériences de choix simple (*Y maze*). Ceci est vrai en ce qui concerne le comportement des mâles vivants dans un regroupement, comme ils peuvent influencer le dénouement d'une manière imprévisible. Idéalement on doit tester ceci avec des mâles vivants au sein d'une population naturelle, mais plusieurs facteurs peuvent intervenir et altérer les évaluations. Ces expérimentations sont donc souvent difficiles à réaliser. Les interactions entre les mâles au sein d'un chorus dans les populations naturelles sont beaucoup plus complexes que celles dans les expériences avec les conditions contrôlées (Boatwright-Horowitz *et al.*, 2000). Un compromis serait alors d'utiliser des mâles vivants dans les conditions du laboratoire et d'effectuer les tests dans un cadre qui ressemble autant que possible aux conditions du terrain.

Pour cela, nous avons décidé de réaliser une étude afin de savoir comment les femelles font pour choisir leur partenaire au milieu d'un chorus où tous les signaux sont mélangés et en

constante variation. Nous nous demandons : les femelles sont-elles capables de discerner et discriminer les signaux dans ce contexte? Existe-t-il un caractère préféré aux autres? Chez plusieurs espèces d'orthoptères on remarque que les mâles observés ont tendance à réaliser plusieurs ajustements dans leurs signaux en réponse aux modifications que réalisent de leur côté certains de leurs voisins (Greenfield, 1994). Et en parallèle, chez les mâles, nous nous demandons quels sont les ajustements des signaux acoustiques où on observe la réponse compétitive la plus importante au sein d'un chorus? Existe-t-il des réponses sélectives parmi les individus composant un regroupement de chorus ?

Nous suggérons que dans un milieu aussi bruyant que celui d'un chorus, il peut exister des signaux plus repérables que d'autres et que ceux-ci seront donc les signaux préférés par les femelles. A partir de cela, nous avons réalisé cette étude avec des femelles et des mâles vivants en formant divers groupes de mâles représentant un chorus. Ainsi, nous pouvons observer le processus de choix de partenaire avec des réponses des individus proches de la réalité mais sans l'influence d'autres stimulus et interférences présentes dans leur milieu naturel. Cette étude nous a ainsi permis de mieux connaître la forme particulière dans laquelle agit réellement la sélection sexuelle sur la variation de signaux chez les mâles, en utilisant comme modèle biologique la sauterelle *Ephippiger diurnus*.

Dans une dimension plus détaillée, divers traits acoustiques du chant peuvent être émis à l'intérieur d'un chorus. À l'échelle de ces regroupements de mâles, chez *E. diurnus*, il a été démontré que les choix des femelles sont influencés par le nombre de syllabes dans les phrases émises par les mâles (Ritchie, 1996). Le rythme (*nombre de phrases par période de temps*) a aussi une influence importante dans l'attrait des mâles (Busnel, 1952 ; *e.g.* Berg et Greenfield, 2005). De plus, les femelles d'*E. diurnus* sont influencées dans leur choix par l'effet de la priorité. Cet effet consiste en la préférence des femelles pour le signal émis « *en premier* » par un mâle spécifique dont le signal est suivi dans une très courte période de temps par le chant d'un voisin (Whitney et Krebs, 1975 ; Dyson et Passmore, 1988a ; Klump et Gerhardt, 1992 ; Howard et Palmer, 1995 ; Grafe, 1996 ; Greenfield et Rand, 2000 ; Bosch et Márquez, 2000) (Figure 1b). Cet effet a été démontré chez plusieurs espèces : *Neoconocephalus spiza* (Snedden and Greenfield 1998), *Amblycorypha parvipennis* (Galliart and Shaw 1996), *Ephippiger ephippiger* (Greenfield *et al.* 1997), *Ligurotettix planum* (Minckley and Greenfield 1995), *Ligurotettix coquilletti* (Greenfield *et al.* 1997) et *Mecopoda elongata* (Fertschai *et al.* 2007). L'expression de cette perception auditive (Zurek, 1987) varie beaucoup selon l'espèce. Cependant, les études précédentes sur la préférence pour les chants

émis en premier n'ont été réalisées qu'avec des populations émettant une à deux syllabes et ne comprennent pas d'évaluations de la préférence des femelles en considérant toutes les autres caractéristiques potentielles du chant.

Nous avons ainsi comme objectif de répondre aux questions suivantes : Comment ces divers caractères influencent les choix des femelles au sein de chorus semi-naturels? Est-ce-que tous jouent un rôle, ou bien un seul d'entre eux influence-t-il le choix des femelles plus que les autres ? Si cela est ainsi, est-ce-que le caractère du signal critique joue un rôle important en indiquant la qualité mâle ? Ou est-ce-perçu plus clairement que les autres caractères au sein d'un chorus naturel?

Un travail préliminaire au sein d'un chorus (Berg et Greenfield, 2005) fait avec des insectes en provenance du Sud de la France a répondu partiellement à savoir : les femelles sont-elles capables de discerner et discriminer les signaux au sein d'un chorus? Les résultats observés ont démontré une forte préférence pour les mâles qui émettent plusieurs chants en premiers pendant les interactions acoustiques avec leurs voisins. En même temps ces études n'ont été réalisées qu'avec des populations d'une à deux syllabes et ne comprennent pas des évaluations de la préférence féminine en considérant toutes les caractéristiques potentielles du chant.

On remarque que les mâles observés ont tendance à réaliser plusieurs ajustements dans leurs signaux en réponse aux modifications que réalisent de leur côté certains de leurs voisins (Snedden et Greenfield, 2003). Ainsi, le travail présenté ici apporte une contribution majeure, puisqu'il a évalué une population avec un chant dont le nombre de syllabes est très variable, et ce en évaluant plusieurs signaux en même temps.

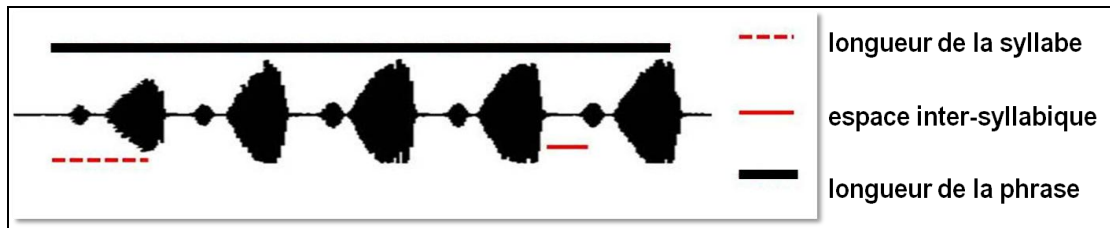


Figure 1a- Représentation d'une phrase polysyllabique d'*Ehippiger diurnus* montrant les caractères intrinsèques du chant qui sont soumis à des variations parmi les différentes populations. Le nombre de syllabes est un trait qui représente la longueur totale de la phrase

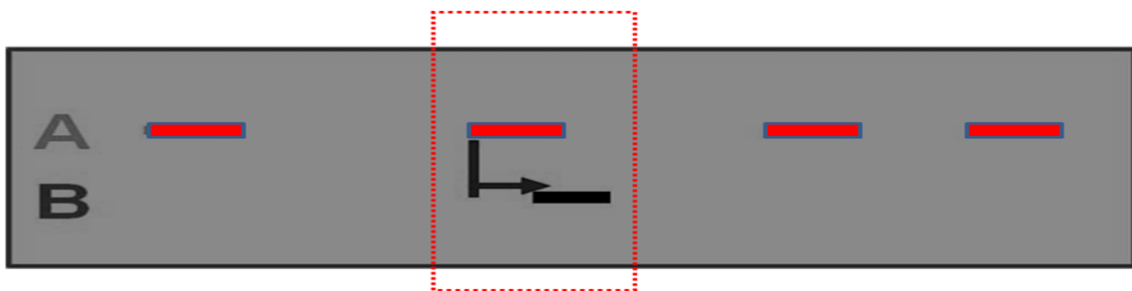


Figure 1b - Les barres de la ligne A correspondent aux chants émis par un mâle A. En dessous, la barre de la ligne B correspond au chant d'un autre mâle (B) émis à proximité de celui émis par le mâle A. La zone en pointillé entoure la section de l'interaction entre les mâles. Un écart d'appel lorsqu'un (A) représente un chant « en premier » et la barre B un chant en deuxième. Représentation de l'effet de la priorité chez les femelles



Figure 1c - Réponse du mâle A avec un décalage de phases. Le mâle A a ainsi évité d'émettre un chant juste après B (qui aurait été considéré comme chant en deuxième) et a ainsi augmenter sa probabilité d'émettre un chant en premier dans le prochain cycle

Les résultats se basent sur la réponse d'un nombre important d'individus et en plus les femelles ont réalisé le test de préférence deux fois. En outre, à partir d'expériences avec des stimuli artificiels, l'occurrence d'une attention sélective a été démontré chez *E. diurnus* comme chez d'autres insectes et diverses espèces d'anoures où il a été montré que les mâles répondent seulement à certains signaux parmi d'autres (Snedden *et al.* 2003, Greenfield et Rand, 2000). Les réponses des mâles au sein d'un groupe varient fortement par rapport au test de réponses simples envers un seul mâle ou bien aux stimuli diffusés depuis un haut-parleur.

Les réponses dans ce contexte, peuvent consister en divers ajustements et nous nous demandons: est-ce- que les mâles ralentissent leur rythme afin de maintenir un nombre de syllabes requis dans leurs phrases ? Ou raccourcissent-ils leurs phrases afin de maintenir le rythme? Chez *E. diurnus* et d'autres espèces acoustiques qui produisent des chants rythmiques, les ajustements réalisés par les mâles prennent la forme de réinitialisation-inhibitoire. C'est un mécanisme d'ajustement utilisé par les mâles. Lorsqu'un mâle (le mâle *focal*) perçoit le signal d'un voisin, ce mâle *focal* sera inhibé dans l'initiation de l'appel et recommence la phase *génératrice* du rythme de son signal et son prochain signal est décalé (voir Greenfield, 1994) Ce mécanisme affecte une seule période du chant et le mâle reprend immédiatement les caractéristiques habituelles de son appel dans le cycle suivant (Buck et al 1981, Hanson, 1978). Ceci est ici une question critique puisque dans cette étude les groupes de mâles sont entourés par plusieurs voisins, étudiés par groupes de trois à quatre et non avec un seul voisin. Dans ce cas, le mécanisme de la réinitialisation-inhibitoire deviendrait difficile sans quelques modifications.

Ainsi, nous nous sommes centrés sur les modifications dans les caractères relatifs au chant du mâle qui impliquent des variations possibles du comportement acoustique dans un même individu. D'autre part, la population expérimentale utilisée était polysyllabique, puisque l'on s'attend à observer plus d'ajustements dans des chants complexes. Nous avons prédit qu'afin d'augmenter leur attrait, les mâles: a) émettront plus de syllabes lorsqu'un autre mâle a modifié son chant, b) que les mâles réaliseront plus d'ajustements de rythme du chant surtout quand un nouveau mâle s'incorpore au chorus, et c) qu'ils modifieront aussi la phase du rythme, ce qui implique une augmentation de la fréquence des chants en premiers émis. D'autre part, dans le test de discrimination, du *chapitre 2* de la thèse, les femelles ont montré une préférence pour différentes caractéristiques du chant des mâles. En même temps il existe la possibilité que les femelles deviennent moins sélectives au sein d'un chorus. Ceci est une situation plus complexe que le test de discrimination à deux voies. De fait, les traits acoustiques du chant qu'une femelle doit discriminer comprennent deux classifications : une qui correspond aux caractéristiques spécifiques du chant comme la longueur, l'intensité, la fréquence etc., et l'autre qui correspond aux traits d'interaction, traits plutôt comportementaux et pour cela, traits relatifs. C'est à ceci que nous nous sommes intéressé, car ces traits relatifs ne sont pas forcément constants chez un même individu.

Nous suggérons que dans un contexte aussi bruyant, exposés aux signaux multiples d'autres sources et espèces accompagnant celui d'un chorus (*cocktail party*), il doit exister des

signaux plus repérables que d'autres et que ceux-ci seront donc les signaux préférés par les femelles. D'autre part, on peut s'attendre à ce que puissent exister des formes particulières d'interactions acoustiques montrées plus fréquemment par certains mâles (*e.g. accélération du rythme, réinitialisation-inhibitoire*) et que ce type d'individu émettra une même forme de communication au sein de différents groupes du chorus où leurs voisins ne sont pas les mêmes. Un mâle devrait donc équilibrer les demandes conflictuelles en émettant des appels en continu et en évitant d'émettre des chants ineffectifs (*e.g. « chants en deuxième »*).

Finalement, cette étude nous a permis de constater les divers types d'ajustements acoustiques réalisés par les mâles au sein d'un regroupement. De mieux connaître à quels ajustements des signaux acoustiques on observe dans la réponse compétitive la plus importante au sein d'un chorus. Nous suggère qu'il existe des caractères *relatifs* auxquels les mâles réagissent plus facilement, et qui seront les traits préférés par les femelles. Ainsi ce travail nous a permis de démontrer qu'il existe une attention sélective chez les mâles, dont chants sont dirigés vers certaines individus en particulier (Pollak, 1988 ; Römer et Krusch, 2000) Les mâles plus participatifs a qui les autres ont répondu ont été probablement, considérés comme les individus les plus compétiteurs par les femelles (Greenfield et Rand, 2000).

Méthodes - Chorus

L'objectif de cette étude était d'évaluer les traits acoustiques sous la pression de la sélection sexuelle chez *Ephippiger diurnus* dans un contexte similaire aux conditions naturelles. Il s'agit d'un contexte où plusieurs groupes de mâles, situés à proximité les uns des autres, chantant pour attirer les femelles, forment un environnement acoustique, connu comme *un chorus*. Notre dispositif expérimental nous a permis d'avoir des informations sur la réponse des mâles et femelles aux signaux avec des stimuli naturels, ce qui signifie en tant qu'appel réel et non construit de manière artificielle.

Dans cette étude sur la préférence des femelles, seuls les traits du signal du mâle ayant été significatifs dans les études antérieures ont été évalués, soit le *nombre de syllabes*

(Ritchie, 1996), le *rythme* (Berg et Greenfield, 2005) et *l'effet de la priorité* (Greenfield *et al.* 2004). Ainsi, à partir d'une seule expérience, cette étude a permis de répondre à deux aspects : 1) les changements acoustiques « compétitifs » entre mâles. 2) les préférences des femelles, et ce, dans leur milieu naturel du chorus.

1. L'espèce étudiée.

Nous avons décidé d'étudier les sauterelles *Ephippiger diurnus*, (Orthoptera: Tettigonidae) qui se prêtent particulièrement à cette expérimentation. Les femelles sont sélectives, et les mâles réactifs. Le chant de ces mâles montre d'importantes variations géographiques. Les différentes populations ont été définies sur la base du nombre de syllabes constituant les phrases du chant (*monosyllabiques et polysyllabiques*) (Duijm, 1990). Uniquement les mâles chantent : la stridulation est produite par l'ouverture et la fermeture des élytres (*les ailes vestigiales*), les deux mouvements correspondant à une syllabe et la succession de syllabes correspond à une phrase ou chant (**fig.1**).

Le chant de la population testée se compose de phrases qui vont de 3 jusqu'à 6 syllabes. Les individus provenant de Col de Mantet (Latitude 42,5°N, longitude 2,3°E), Pyrénées Orientales, France, ont été collectés au stade de nymphe en Août 2010. Tester une population polysyllabique était important parce que celle-ci représente un élément de plus, qui peut être impliqué dans le choix des femelles (Ritchie, 1996) et dans les interactions compétitives entre mâles (Greenfield et Snedden, 2003). Auparavant, le nombre de syllabes contenu dans une phrase, n'avait pas été étudié dans le contexte d'un chorus.

Système d'accouplement: En conditions naturelles, femelles et mâles cohabitent dans les buissons. La rencontre des partenaires consiste en un processus de phonotaxie de la part des femelles. Les regroupements des mâles varient, en moyenne entre 3 et 6 mâles (Colin-Jarrige et Brunel-Pons, *observations personnelles sur le terrain*). Les femelles sont plus mobiles que les mâles afin d'exercer leur sélectivité. Les mâles émettent leur chant d'appel le matin entre 6 et 13 heures (Berg et Greenfield, 2005). C'est une espèce qui ne vole pas, les individus se déplacent en marchant d'un buisson à l'autre. Les femelles écoutent les divers signaux des mâles avant de faire leur choix, puis elles s'orientent vers un mâle spécifique. Les chants sont perçus à longue distance, à près de 30 mètres (Busnel, 1952), et la durée du choix des femelles peut durer d'une minute jusqu'à des heures. Une fois à proximité du mâle, celui-

ci se met à tremuler en diminuant son chant (Busnel, 1952 et *observations personnelles*). A partir de là, le contact physique commence. À l'issue de l'accouplement, un spermatophore (pouvant atteindre jusqu'à 40% du poids du mâle chez cette espèce (Wedell et Ritchie, 2004) est transféré à la femelle.

Conditions d'élevage: Les juvéniles ont été élevés individuellement dans des boîtes en plastique de 10 cm de diamètre sur 15 cm de hauteur. La nourriture, changée tous les deux jours, se compose de choux frisés frais, de flocons de nourriture pour poissons et de pollen en grains administrés *ad libitum*. Les conditions d'élevages sont maintenues constantes à 25 °C, à un taux d'humidité relative 50% et une photopériode J:N de 16 :8 (jour de 6h à 22 h). Puisque nous étions intéressés d'évaluer leur comportement sexuel pendant la parade, les adultes ont été testés 15 jours après la mue imaginale (adulte), moment à partir duquel mâles et femelles ont été placés dans des locaux séparés, pour éviter d'exposer les femelles aux chants des mâles groupés.

2. Méthodologie expérimentale.

Dispositif expérimental. Pour examiner les interactions entre les mâles dans un contexte proche des conditions naturelles, ressemblant acoustiquement au chorus, nous avons construit une *arène*, d'une circonférence de 1 m, et avec un mur de mousse de 48 cm de hauteur et 2 cm d'épaisseur comme isolant visuel et auditif.

Afin de permettre la transmission et la réception du chant des mâles, quatre cages cylindriques en moustiquaire (12 cm *hauteur* X 11 cm diamètre) ont été utilisées. Nous avons mis un seul mâle par cage. Celles-ci ont été placées à côté de la paroi en mousse à 50 cm l'une de l'autre. Au centre de l'arène, une canne de 15 cm de hauteur, a été posée, avec une sphère à l'extrémité supérieure où chacune des femelles était libérée lors de l'essai de la phonotaxie. Cette méthode nous a permis ainsi d'éviter d'influencer la direction prise par les femelles (voir Berg et Greenfield, 2005).

Au total nous avons évalué 23 femelles et 20 mâles vierges, âgés de 15 à 30 jours après la mue adulte. Toutes les expériences ont été réalisées à l'intérieur d'un laboratoire avec une température constante ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), avec des fenêtres permettant l'entrée de la lumière naturelle, pendant les premières six heures du matin (de 8 heures à 13 heures), qui correspondent aux heures d'activités du chorus dans la nature (Berg et Greenfield, 2005). Ce

dispositif a permis de représenter la phonotaxie et la situation d'un groupe de mâles formant un chorus. L'appel à l'intérieur d'une arène permet aux femelles d'écouter et de choisir leur partenaire (Figure 2).

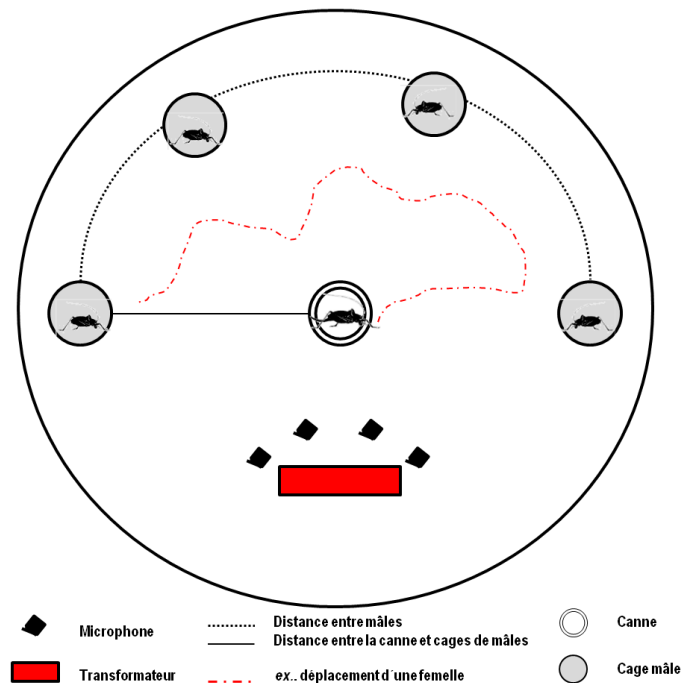


Figure 2 - Dispositif expérimental: arène servant à simuler un chorus naturel avec 4 mâles, dans laquelle les tests de phonotaxie des femelles ont été faits

Les mâles sont organisés en chorus par groupe de quatre, les individus ont été recrutés au hasard. A chaque mâle (n=20) a été attribuée une lettre de « a » à « t » pour nous permettre de les identifier individuellement, code conservé dans toutes les expériences dans les divers tests et enregistrements. En total on a eu 46 regroupements de 4-mâles (n= 184 individus) aux quelles on a analyse leurs chants (durée d'analyse 1 minute par chorus par mâle). De même, un code basé sur les nombres de 1 à 23 a été attribué aux femelles. Pendant chaque test, les femelles étaient libérées au centre de l'arène où elles pouvaient entendre tous les mâles (*voir dispositif expérimental*).

Durant chaque test, la durée de l'évaluation des femelles ainsi que les mâles qui participent au chorus ont été enregistrés et nous avons identifié le mâle du groupe qui a été choisi par la femelle. Des enregistrements vidéo ont été faits durant les essais de la phonotaxie des femelles. En même temps, les chants de chacun des mâles ont été enregistrés au cours de chacune des épreuves avec chacune des femelles. En raison du dynamisme et de la temporalité de l'activité acoustique entre les mâles, nous avons mesuré en même temps

l'attention sélective d'un mâle envers ses voisins du groupe. Nous considérons comme *compétitifs* les mâles ayant émis plus de chants que leurs voisins, ayant le taux de chants par minute le plus haut. Et nous considérons comme *participatifs* les mâles ayant eu une participation supérieure à 50% des émissions totales du chorus par rapport au total des émissions réalisés par tous les participants (durée 1 min).

L'intervalle entre chaque test de chorus (4 mâles à la fois) a été de 10 min. Les groupes de quatre mâles ayant été formés au début de manière aléatoire la fréquence de participation de chaque mâle de la population n'a pas été équitable. Nous avons analysé pour la préférence, deux tests de phonotaxie par femelle ($n=23 \times 2$) soit au total 46 chorus ($n=184$ mâles). Notre choix des groupes a assuré que chaque femelle était exposée à des mâles différents lors des deux tests de phonotaxie. A partir de ces chorus, pour évaluer les comportements des mâles, nous avons fait une sélection de 9 chorus à trois intervalles du temps ($9 \times 3 = 27$) sur le critère de 3 ou 4 mâles chantant. Nous avons d'abord évalué la variation des interactions au fil du temps (intervalles de 10 min) d'un même regroupement. Ainsi nous avons analysés 36 mâles distribués au sein des 9 chorus et analysés en trois temps différents: $t1$ premier enregistrement, $t2$: deuxième enregistrement, $t3$: troisième enregistrement soit au total = 27 chorus). Ensuite, nous avons observé et calculé les pourcentages de l'attention sélective entre tous les individus d'un même groupe, soit les interventions acoustiques réalisées par un mâle déterminé (*mâle focal*) au sein d'un regroupement. Celles-ci ont été classifiées en fonction des pourcentages des émissions réalisées d'après le chant du voisin d'avant (mâle entendu). Les critères utilisés pour qualifier l'attention de chaque individu envers les autres, ont compris : 1) les chants émis en deuxième, qui ont été émis dans l'intervalle du temps compris entre 30 et 900 ms après un premier chant en première. Et 2) les chants ayant été émis dans un intervalle de 900 à 2700 ms. Avec l'aide d'une matrice effectuée pour chacun des 27 chorus, nous avons calculé les pourcentages de réponses individuelles, dans lesquelles a été pris en compte a) l'identité de chaque mâle, b) le taux d'attention reçue par chaque voisin, c) le temps du chorus évalué. Ensuite nous avons donné la valeur d'indice d'attention qui pourrait être de 0, 20, 40, 50, 60, 80 ou 100 % d'attention reçue.

3. Enregistrements et analyses des sons

Les enregistrements ont été faits avec le logiciel AVISOFT ® en utilisant un transformateur et un ordinateur portable. Quatre microphones (Radio Shack model CM16 CMPA) sont branchés au transformateur. Chacun des microphones a été placé en face de

chaque mâles à 60 cm de distance de celui-ci. Pour les enregistrements de chaque chorus nous utilisons le programme de SASLAB PRO ®, avec lequel il a été possible d'analyser les oscillogrammes correspondant aux enregistrements à 4 canaux, permettant d'extraire en parallèle des caractéristiques individuelles du chant de chacun des quatre mâles participants.

L'analyse des oscillogrammes a été réalisée uniquement sur la période correspondant à la minute précédant le moment de l'élection de la femelle. Ce moment correspond à l'arrivée de la femelle près d'un mâle spécifique qui sera suivi de plusieurs minutes (>3 min) passées sur la boîte du mâle choisi. Ce critère a été établi parce que la femelle, au début, se promenait parmi les boîtes, et qu'ensuite elle changeait son rythme de déplacement pour un rythme plus rapide et sa direction vers un mâle précis. Nous supposons qu'à ce moment-là, elle a été fortement influencée par le chant de ce mâle. (Alem et Greenfield, 2010).

Analyse des interventions acoustiques des mâles

Nous avons analysé les interactions des mâles sur les critères utilisés par Snedden et Greenfield (2003), ajustés d'après nos observations préliminaires du chorus de Col de Mantet, en utilisant les intervalles suivants, par rapport au début du chant d'un mâle en remarquant pour chaque intervalle :

1): Émissions entre 0 - 30 ms, quand le mécanisme du chant était déjà déclenché, ce qui n'est donc pas en réalité une réponse envers le chant émis par le voisin d'avant

2): Emissions d'après 31 -900 ms, qui représentent l'effet de la priorité correspondant au mâle ayant émis *le deuxième chant* dans cet intervalle après le chant de son voisin (Figure 1) (Greenfield *et al.* 2004). Cet intervalle correspond au chant « du deuxième » qui n'a pas réussi à s'arrêter car le mécanisme d'émission était déjà déclenché, ce qui n'est donc pas en réalité une réponse au chant émis par le voisin d'avant. Émission en dépit la préférence de femelle pour le voisin

3): Emissions entre 1000 – 2700 ms, ce sont les chants émis dans cet intervalle après un chant émis par le voisin d'avant. Emissions caractérisées pour être émises après une période de silence (≥ 1 sec). Dans ce cas le mâle ne subira pas l'effet de la priorité chez une femelle pour le voisin (Greenfield et Snedden 2003)

4) Émissions au-delà de 2700 ms : quand l'émission d'un mâle a dépassé un délai trop important pour être une réponse au chant du voisin, ou on suggère qu'un individu chante de manière indépendante, sans faire attention aux voisins (*e.g. Greenfield et Rand, 2000*).

Finalement, pour chaque chorus ($n=46$) et chaque mâle intégrante du ceci, ($n= 184$) ont été analysés: (1) pour le rythme : le nombre total d'émissions dans une minute, (2) Pour la longueur des phrases : Le nombre de syllabes « typique » dans leur phrases (*le mode* de la quantité des syllabes émises dans chaque phrase) (3) Pour les intervalles de émissions: a) la moyenne de l'intervalle de temps entre chaque émission du chant les intervalles d'émission d'après l'émission d'un voisin. b) émissions de 0 à 30 ms, quantité de chants émis « *en premier* » c) émissions de 31 ms à 900 ms la quantité de chants émis « *en deuxième* » après le chant de voisin d) émissions entre 1000 et 2700 ms une interaction sans obstruction suivant le décalage « *en alternance* » de l'espèce) quantité des chants émis au-delà de 2700 ms émissions « *indépendantes* » des voisins.

4. Analyses statistiques

Afin de comparer les caractéristiques acoustiques du mâle choisi par la femelle avec celles des autres mâles d'un même group et identifier les traits déterminant la préférence des femelles nous avons utilisé un U-test de Mann-Whitney en appliquant la correction de Bonferroni pour ajuster l'alpha par rapport au nombre de comparaisons (i.e., comparaisons multiples). Les traits choisis pour les comparaisons étant 1) la fréquence de chant en premier ; 2) le nombre de syllabes le plus fréquent dans leur phrases et 3) le rythme du chant (i.e. nombre d'émission par minute). Les données correspondent aux résultats de deux tests de phonotaxie effectués par chacune des femelles ($n = 23$).

Résultats

1. Sélection intersexuelle pour les traits acoustiques dans un contexte de chorus

Au niveau de la rencontre des individus dans le contexte de groupe, nos résultats nous permettent de démontrer une forte influence de la sélection sexuelle, qui confirme la pression

de la sélection sexuelle sur certains traits ayant été auparavant observés dans les tests à deux-voies au sein des laboratoires. Les mâles réalisent des ajustements dans leur rythme, intervalles et nombres de syllabes, mais dans la sélection intersexuelle nous avons observé que le nombre de chants émis en premier (*effet de la priorité*) est le seul trait ayant été significatif.

2. Comportement de choix des femelles.

Par rapport aux hypothèses de phonotaxie des femelles nous avons constaté que 1) les femelles réalisent des discriminations par rapport aux traits acoustiques des mâles, même dans le contexte d'un chorus, une ambiance acoustique où les signaux sont dynamiques et mélangés. 2) Au sein d'un contexte semblable à ceci où le choix de partenaire a lieu, les femelles ont montré une préférence ou sélectivité envers un trait en particulier. Le processus classique de phonotaxie est présent, elles se montrent attentives aux stimuli acoustiques semble qu'elles font une délibération avant de choisir un mâle et virer vers lui. Dans la plupart des tests elles ont passé plus de trois minutes à faire leur choix, et dans certains cas elles ont fait demi-tour et sont remontées sur le bâton placé au milieu de l'arène pour attendre encore une fois les différents mâles. Très peu de femelles sont allées directement vers un mâle sans réaliser une promenade entre les diverses cages dans l'arène. Souvent, elles pourraient passer à côté d'une de boîtes et ignorent ce mâle en particulière. La durée du processus de phonotaxie, depuis la libération des femelles sur la canne jusqu'au choix d'un mâle, a été de 1 à 6 min et la moyenne de cette durée a été de 3 min. Seulement au moment où la femelle a fait son choix, elle est montée et est restée sur la couverture de la boîte du mâle en moyenne $>1\text{min}$) d'après 1.30 *secondes* on a considéré ce mâle comme le « mâle choisi ». Ces comportements liés aux caractères des mâles peuvent se prendre en compte comme une preuve que les femelles font attention aux stimuli et ont un intérêt pour les chants des mâles, donc que leur choix est difficilement lié au hasard.

2.1 Préférence femelles pour les traits acoustiques.

Nos analyses révèlent que ce sont les mâles qui ont fait le plus d'émissions de chants en premier pendant leurs interactions acoustiques dans les chorus qui sont préférés par les femelles. En analysant la valeur relative du taux d'émissions des divers caractères présent chez les mâles choisis en comparaison avec la valeur moyenne des 4 mâles nous mettons en évidence que pour les différents traits acoustiques (*chants en premier, émissions de chants en*

deuxième, émissions à un rythme plus rapide et émissions de plus de syllabes dans leurs phrases), d'après un U-test de Mann-Whitney en appliquant la correction de Bonferroni pour ajuster l'alpha par rapport au nombre de comparaisons (i.e., comparaisons multiples) on observe que seules les émissions des chants en premier ont été significatives ($p=0.0016$). On constate dans la représentation graphique (Figure 3) que c'est le seul paramètre qui est au-dessus de zéro.

En dépit des préférences exposées pour le rythme et nombre de syllabes montrées dans le test à deux voies (chapitre 2), dans le chorus cette étude montre que le chant émis « en premier » correspond au trait acoustique préféré par les femelles et mis en évidence que ce trait dépasse les autres facteurs.

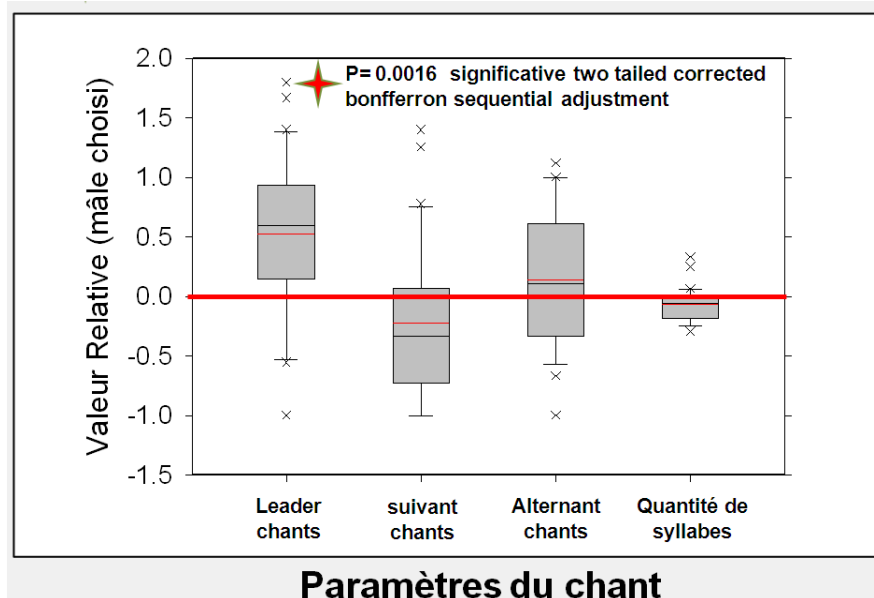


Figure 3 - Valeur relative des différents caractères acoustiques présents chez les mâles choisis par les femelles, exprimée comme la différence de la valeur d'un trait du mâle choisi par rapport à la moyenne des valeurs obtenues pour ce trait pour les 4 mâles du groupe. Les données correspondent à la minute précédant le choix des femelles ($N= 46$ chorus). Le chant en premier est le seul caractère statistiquement significatif (étoile) selon le U-test de Mann-Whitney avec correction de Bonferroni pour des comparaisons multiples (valeur critique ajustée de $\alpha= 0.016$). Le trait noir de la boîte à moustache indique la moyenne et le trait rouge la médiane.

Les mâles réalisent des ajustements par rapport au nombre de syllabes contenu dans leurs phrase, à un taux de changement très élevé. Néanmoins les femelles, ne font apparemment pas du tout attention à ce trait. Parmi les mâles choisis le nombre de syllabes « typique » (*le mode*) dans leurs phrases était très variable (il peut aller de 3 à 5 syllabes. Le nombre de syllabes « typique » (*le mode*) dans la phrase du mâle choisi par une femelle dans

le premier test de phonotaxie ne correspond pas nécessairement à celui du deuxième test que cette femelle a effectué. En effet, pour ce trait, la fenêtre d'options chez Col de Mantet était de 3 à 6 syllabes, mais la plupart du temps les mâles produisent de 4 à 5 syllabes. Nous suggérons qu'il n'existe pas un effet de l'individu puisque dans les regroupements entre le première test par rapport au deuxième la femelle n'a pas choisi le même mâle. En revanche, dans certains cas, les tests de phonotaxie avec différentes femelles, effectués au sein d'un même regroupement, il y avait un mâle qui a été dans la plupart des cas l'individu choisi (2 de 3) il s'agit d'une préférence pour le type d'émissions réalisées et non l'identité individuelle. Ce sont certainement les types chants émis en premier plus représentés qui dépassent les autres caractères.

2.2 Compétition et variation des signaux chez les mâles

Nous avons observé que le taux de participation des membres des regroupements est inéquitable parmi les individus de chaque chorus, mais cette participation est variable au fil du temps. Au sein d'un même groupe, les individus ayant émis un chant « *en deuxième* », avaient une tendance à garder cette position dans plusieurs autres de ses émissions. Le chant émis par un individu changé au fil du temps ainsi que les individus plus attendus change au sein de différents groupes. (**fig. 5 à gauche**). Cette dynamique explique que le choix ne se base pas sur l'identité d'un individu mais sur le type d'émissions et les intervalles réalisés. Nous avons donné le terme de compétitif à ce mâle qui avait le plus d'interventions acoustiques dans les chorus. Le voisin plus compétitif à celui qui avait les paramètres les plus proches de ceux des mâles choisis. En effet, le dynamisme et l'attention sélective sont assez importants. Certainement, comme nous avons observé dans les résultats des phonotaxie des femelles, les émissions des chants en premier ont été plus favorisées car les mâles étaient plus attractifs, ainsi que le taux des participations est important puisqu'en général quand un individu était plus participatif (*entendu comme le mâle ayant émis plus de chants au sein d'un même groupe par rapport aux autres voisins*), il arrivait à augmenter le taux d'émissions des chants en premier, en gardant un même rythme. L'attention sélective joue un rôle prépondérant chez les mâles qui répondent plus à un ou deux de leurs voisins. Les participations observées sont un chorus de 2 ou 3 mâles plus participatifs et quelque fois un individu se limite à chanter.

Ainsi, en réponse à notre deuxième question, concernant les réponses acoustiques données par les mâles membres de chaque chorus, nous avons vérifié l'hypothèse que les mâles, 1) réalisent des ajustements constants pendant leurs émissions d'appel et 2) les

ajustements se font de manière permanente mais le type d'interventions acoustiques réalisé par les mâles n'est pas toujours le même. Les ajustements qu'ils ont réalisé ont été divers et ils ont consisté en : 1) des modifications dans le nombre de syllabes dans leurs phrases, 2) des variations dans les intervalles existants entre un chant donné et le prochain chant au fil du temps 3) des variations réalisées par les membres du chorus par rapport à l'individu envers lequel ils réagissaient acoustiquement (*attention sélective*) (**fig. 5**). Ainsi, nous pouvons établir que dans le chorus chez *E. diurnus* il y a des « règles » d'interventions acoustiques suivies par les mâles (*voir aussi les phénomènes similaires parmi d'autres espèces* : Rand et Greenfield, 2000; Greenfield et Snedden, 2003). Les mécanismes qu'ils peuvent utiliser sont variés et temporels. Nous n'avons pas observé de système d'usage avec diverses stratégies (*règles d'intervention*) prédéterminées. Cette étude a enlevé les facteurs acoustiques extérieurs, les individus ayant été exposés seulement au milieu acoustique produit par leurs propres signaux.

2.2.1 Ajustements dans le nombre des syllabes.

Afin d'arriver à reprendre un taux de rythme déterminé avec des intervalles plus réguliers, nous avons prédit que les mâles pourraient réaliser des ajustements dans le nombre de syllabes émises. Mais, par rapport à ceci, nous n'avons pas trouvé un *pattern* de comportement apparent. Cependant, 97% des mâles ont réalisé des modifications dans leurs phrases de ± 1 syllabe, le taux général des changements des mâles (n=23) a été en moyenne d'une fois chaque 5 émissions pendant leurs émissions au sein de chaque chorus (*durée 1 minute*). Il faut remarquer que ce phénomène est aussi très variable entre les individus, comme nous avons observé des cas extrêmes dans lesquels les individus n'ont pas changé le nombre des syllabes dans aucune de ses phrases (100% des phrases avec 4 syllabes) pendant la minute analysée et des mâles qui ont émis la moitié de ces phrases avec un nombre des syllabes et l'autre moitié avec un autre (50% des phrases de 4 syllabes et 50% avec 5 syllabes). Ce trait n'était pas important, non plus, pour les femelles, mais il faut remarquer qu'il ne s'agit que d'une seule population que nous avons étudié: Col de Mantet.

2.2.2 Variations dans les intervalles

Nous avons analysé au total 18 regroupements différents au fil de différents tests (n =46 une pour chaque femelle testé). Le pourcentage d'émissions de chacune des

classifications est montré dans la **figure 4a**. Les résultats observés sur les différents intervalles ont été :

Entre 0- 30 ms: les taux des chants qui ont été déclenchés ont été très bas, seulement 1.15 %. Nous considérons que ce sont des cas dans lesquels les mâles ne pouvaient pas réagir quand un autre mâle a chanté et le mâle le mâle avait mis son chant qui finalement a été émis presque en même temps.

Entre 30 ms et 900 ms : Les chants *en deuxième* présentent plus de variations parmi les différents individus et même au sein de différents chœurs. Le décalage entre le « *chant en premier* » et le « *chant en deuxième* » plus représenté a été entre 100-250 ms. On a obtenu donc, au total 25.03% des réponses entre 31 et 900 ms. Ces interactions ont été beaucoup plus variables, par rapport à ce décalage où le décalage entre (**figure 4b**). En effet, le taux de réponses a été plus bas que celui de l'intervalle entre 1000-2700 ms. Même si les mâles ne font pas la plupart du temps ce type d'émissions, c'est celui-ci qui a été le préféré par les femelles.

Chants entre 1000 et 2700 ms : Celle-ci, a été la forme la plus régulièrement observée, 62.73% des émissions parmi tous les chœurs analysés ($n=46$) ont été émises dans cet intervalle, le plus fréquent a été entre 1000 et 1900 ms. La distribution on peut l'observer dans l'histogramme de la **figure 4b** où on observe que le plus fréquente a été. Ceux-ci sont caractérisés par une période de silence (≥ 1 sec) après un chant émis par un autre individu. La durée moyenne de silence générale a été de 500 ms (Figure 4)

Intervalles au-delà de 2700 ms : les événements dans lesquels un individu chante de manière indépendante, sans faire attention aux voisins a été de 11.07%, la moyenne a été à 3100 ms, moins fréquent dans les chœurs où ils avaient trois participants. L'intervalle plus éloigné observé a été de 7000 ms. Ces émissions ont dépassé un délai trop important pour être une réponse au chant du voisin, donc, n'étaient pas pris en compte pour notre analyse. Car les individus ne chantaient pas régulièrement, et nous avons considéré que ceux-ci, n'étaient pas représentatifs des conditions de compétition acoustique.

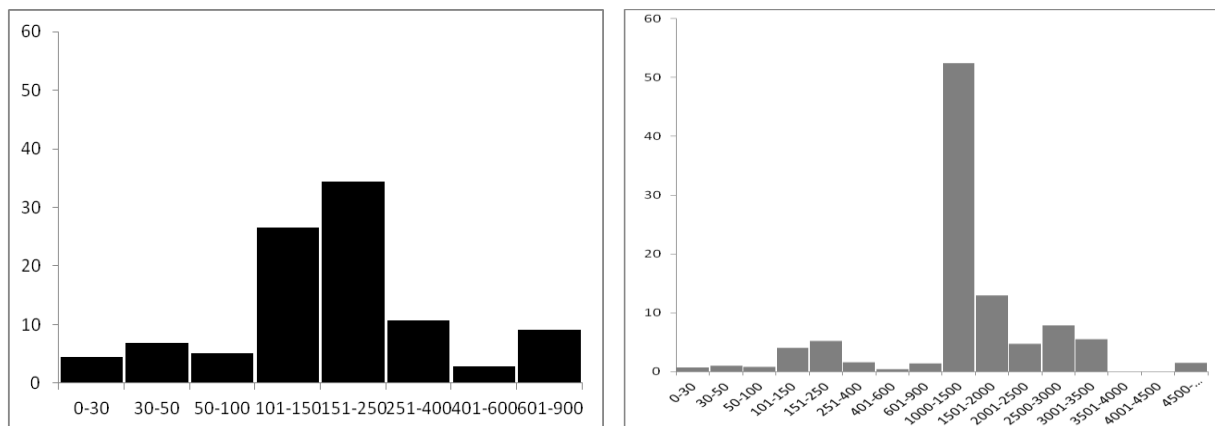


Figure 4 - a) Incidence totale des types chants réalisées par les mâles (n=27 chorus) au sein du chorus (n= 9 regroupements x 3). b) décalages (s) montrés par les mâles dans les interactions des chants considérés comme en premier-en deuxième (n=27 chorus).

Attention sélective et temporalité: Les participations qui dépassent le critère de 50% interactions entre des divers individus observés été parmi 2 individus 47 % et parmi 3 63 % dans les diverses chorus (n=27). Le mâle *focal* réponds la plus part du temps vers un même individu mais, le sens de la communication n’était toujours réciproque. On observe toujours deux mâles plus *participatifs* (Figure 5) La moyenne d’attention a été de 2 individus par chorus pour le mâles ayant eu le plus attention dans un groupe. Pas mâles plus participatifs et quelque fois un individu se limite à chanter. Au sein de différentes groupes un même mâle na pas reçue la même attention ainsi que au fil du temps les intervalles ont une tendance à ce modifier mais le changement a été moins important.

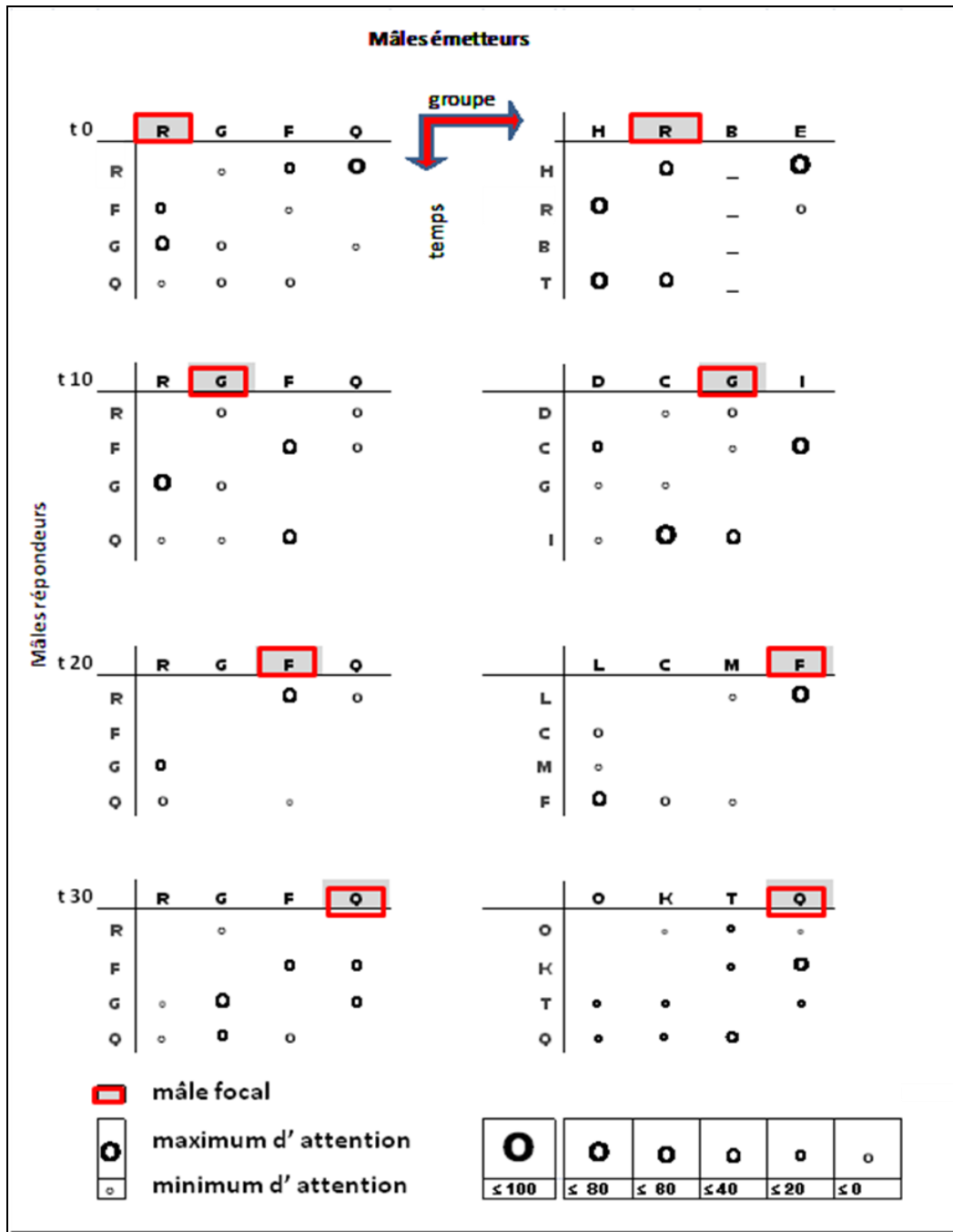


Figure 5 - Exemples de l'attention sélective (pourcentage) de différents participants des chœurs envers les autres mâles. Les réponses de chant en alternance et chant en deuxième envers le deuxième sont indiquées par des cercles. Les lettres correspondent à l'identification

Discussion

Notre étude du comportement acoustique d'*Ephippiger diurnus* nous a permis d'approfondir notre connaissance du processus de sélection sexuelle au sein d'un chorus. Cette étude a mis en évidence la manière dont les interactions acoustiques entre individus sont importantes tant pour les mâles qui chantent que pour les femelles qui choisissent.

Les expériences de choix multiple, dans des conditions contrôlées de laboratoire, nous ont permis d'évaluer le choix des femelles dans une situation qui ressemble les conditions naturelles, dans le sens où elle doit choisir entre des signaux provenant de directions et d'individus différents. Ce choix a lieu dans un environnement où des

de chaque individu. À gauche: variation des interactions au fil du temps (Intervalles 10 min) d'un même regroupement. À droite: variations des interactions réalisées par un mâle déterminé (mâle *focal*) au sein d'un regroupement différent.

facteurs comme le bruit environnemental, la distance entre les différents intervenants et d'autres sont maîtrisés. Ainsi, les différents traits acoustiques et le comportement des femelles ont pu être mesurés avec précision.

De manière générale, nos expériences montrent que le choix de partenaire sexuel par une femelle n'est pas dû au hasard ni basé uniquement sur la proximité du mâle chanteur le plus proche, tel que le prédit la « théorie du voisin le plus proche ». De manière plus spécifique, nos résultats mettent en évidence que les femelles semblent baser leur choix sur certains traits du chant en particulier. Il faut cependant noter que ces traits ne sont pas des caractéristiques associées de manière pérenne à un mâle donné, mais c'est le résultat des interactions acoustiques qui changent avec le temps. Par conséquent, le chorus a une dynamique dans sa structure générale, ainsi que dans la contribution ou statut de chaque mâle. C'est dans cette dynamique que la femelle fait son choix de partenaire à un moment donné.

La préférence de la femelle

Notre travail a confirmé que les femelles d'*E. diurnus* sont soumises au phénomène connu de l'effet de la priorité. Bien que très répandu parmi les animaux qui communiquent

par la voie acoustique et déjà décrit chez *E. diurnus*, notre étude est la première à montrer cet effet dans les populations polysyllabiques de cette espèce, ou ce sont les phrases qui constituent les unités de communication acoustique et non les syllabes.

Lorsque nous avons évalué le décalage temporel capable de permettre à une femelle d'exprimer un choix entre deux signaux acoustiques successifs, nous avons pu établir un intervalle allant de 30 à 900 ms où l'effet de la priorité se manifeste.

Apparemment, les décalages plus importants seraient pour la femelle, équivalents à une période de silence, limitant l'extension temporelle de l'effet de la priorité. Nous croyons dès la perspective de la femelle, ces chants seront perçues acoustiquement comme *chants en alternance* et comme des chants différents au *chant en premier* (Greenfield, 2010).

Un autre phénomène que nous avons mis en évidence est que les femelles préfèrent les chants émis avec une fréquence plus importante en terme de chants par minute. Busnel (1967) dans ses études chez la même espèce utilisait le terme de « dominance acoustique » pour un phénomène équivalent (nombre de chants émises par période de temps).

Néanmoins, ce trait a été parfois plus important chez le mâle le plus compétitif que chez le mâle choisi. Nous proposons alors que le nombre de chants émis par minute n'est pas un trait attirant *per se*, mais que le fait d'émettre plus des chants dans un intervalle de temps donné, augmente la chance de placer plus de chants « *en premier* ».

Concernant les préférences des femelles par rapport au nombre des syllabes des chants, il faut remarquer que contrairement à ce qui a été trouvé par Ritchie (1996), dans notre étude le nombre maximal de syllabes observées dans une phrase n'a pas été un trait significatif pour le choix femelles. Il est alors pertinent de s'interroger sur les raisons de ces différences entre les différentes études de préférence. Une hypothèse serait que ce trait ne soit pas soumis aux mêmes pressions de sélection dans des populations différentes, ayant été fixé comme caractère seulement dans certaines. Parmi ces différentes pressions sélectives la reconnaissance interspécifique peut constituer un élément important pour une population en fonction de la faune d'insectes acoustiques présents dans une région, mais pas pour d'autres.

Il est prématuré, cependant, de s'exprimer par rapport au nombre de syllabes préféré par les femelles de la population objet de notre étude. Le nombre le plus représentatif dans les phrases des mâles choisis était de quatre syllabes mais plusieurs mâles ont présenté des chants

constitués de phrases de cinq ou même de six syllabes sans vraiment que cela leur confère un avantage sur la préférence des femelles.

Les interactions mâle-mâle

Nous avons vu dans ce travail comment les mâles réagissent au chant des autres mâles du groupe en ajustant leur propres émissions pour gagner les places *en premier* dans un chorus. Etant donné que plusieurs, voire tous les mâles, s'engagent dans la compétition, le rôle de leader change d'un moment à l'autre. Nous nous sommes demandé si un mâle réagit au chant de tous les autres membres du chorus ou seulement de certains. La première possibilité demanderait un traitement complexe des signaux acoustiques pour aboutir à la réponse la plus adapté en termes de modulation temporelle des émissions. Dans notre étude nous avons obtenu des résultats qui mettent en évidence l'existence dans notre population d'un phénomène d'attention sélective, en accord avec les résultats obtenus préalablement pour une population monosyllabique de St. Jean de Buèges (Greenfield, 2002, 2010).

Différents mécanismes peuvent amener un mâle à chanter en premier au sein d'un chorus, tels que la réinitialisation inhibitoire ou l'accélération du rythme (Greenfield, 2002). La contribution de chaque mécanisme dans un chorus est complexe à déterminer. Comme nous avons dit avant, la réponse d'un mâle donné peut être associée à l'activité de chant de plus d'un compétiteur et devient alors complexe. Dans notre population les deux phénomènes ont pu être observés, i.e., des raccourcissements ou prolongements d'un point du rapport cyclique (*duty cycle*), ainsi que des changements du rythme. Par ailleurs, ces stratégies peuvent être combinées dans le chant d'un individu donné au sein d'un même chorus.

Un troisième phénomène que nous avons observé est l'arrêt du chant. Un mâle peut alors rester silencieux à la place d'émettre un chant « en deuxième », c'est-à-dire, inefficace (Greenfield & Roizen, 1993 ; Greenfield, 1994). Ce mécanisme permet d'une part d'économiser de l'énergie en réduisant l'effort d'émission et en même temps de « dérober » le rôle leader du compétiteur. Comme nous avons vu préalablement, l'effet de la priorité ne se produit que lorsque des émissions consécutives sont séparées par un intervalle de temps compris entre 30 et 900 ms. Au-delà de cet intervalle les femelles ne semblent pas capable d'identifier qui chante en premier et qui chante en deuxième.

D'autre part, chez les mâles, en ce qui concerne la modification du nombre des syllabes émises, on ne sait pas encore à quoi ceci répond. Mais, apparemment il n'existe pas de règles d'interaction qui résultent dans un changement de ce trait. Nous avons observé dans notre population d'étude une variation importante dans ce trait. Ritchie (1992) a évalué quantitativement ce trait au sein de divers populations en constatant également l'existence d'une forte variabilité. Cet auteur a proposé que deux facteurs puissent en être responsable, la condition de chorus et la séquence d'éclosion. La première est associée à des changements du nombre de syllabes lorsqu'un même individu chante seul ou en chorus. D'après Ritchie (1992) le nombre de syllabes serait également associé à des facteurs génétiques du développement qui déterminent également la séquence d'éclosion des individus.

La sélection sexuelle et les chorus

Les résultats qui dévoilent l'existence d'un effet de la priorité dans le comportement des femelles (i.e., une préférence du chant émis en premier) nous amènent à réfléchir sur la coévolution des traits masculins et les mécanismes de choix de la femelle au sein de l'espèce qu'a fait l'objet de notre étude. Le fait de préférer un comportement acoustique particulier des mâles par rapport à d'autres favorise sa persistance au fil du temps (Greenfield, 2010). Ainsi, l'effet à long terme du choix femelle sera de privilégier les mâles qui présentent plus de chants en premier. En termes de dynamique de chorus, étant donné que les mâles vont rentrer dans une compétition pour chanter avant les autres, le résultat sera un chorus favorisant l'apparition d'un épiphénomène de *synchronie imparfaite* (Greenfield, 2002). C'est-à-dire, un chorus où les chants sont émis plutôt en synchronie, mais dont les rapports de phase des émissions peuvent être modulés par les interactions acoustiques mâle-mâle.

Partie 3

Corrélation entre la variation de la
préférence femelle et celle des signaux
mâle à travers les différentes populations
d' *Ephippiger diurnus*

Avant propos

C'est bien connu depuis de nombreuses années que les mâles des sauterelles *Ephippiger diurnus* produisent un chant d'appel qui diffère entre les populations. Bien qu'il existe un gradient qui va d'une à plusieurs syllabes. Pour pouvoir leur différencier pendant les anciens études ils ont classifié les populations en deux groupes : monosyllabiques et polysyllabiques. Cette variation a suscité l'intérêt pour commencer à réaliser des études centrées sur la préférence des femelles vers les différentes nombre des syllabes parmi des populations qui appartiennent aux deux classifications du chant. Dans ces études, ils ont trouvé une préférence pour le chant plus large, dont avec le nombre maximal de syllabes émis par les mâles de sa propre population.

De façon parallèle, ils ont fait la découverte de l'effet de la précédence présent dans divers espèces entre eux *E. diurnus*. Cet effet consiste en la préférence pour le chant qui est émis après une très courte période de temps (quelques millisecondes) par le chant d'un de ses voisins. Celui-ci, a été démontré à partir d'expériences de phonotaxie d'être prioritaire pour les femelles. Les premiers travaux menés sur *E. diurnus* ont montré que ce sont les mâles qui avaient l'habitude de commercer les interactions et qui en même temps chantaient plus fréquemment étaient préférées par les femelles. En sachant que les signaux du mâles sont généralement impliqués dans la sélection sexuelle ainsi qu'ils au même temps varient géographiquement, on peut attendre que la préférence de femelles varie aussi parmi les diverses populations. Lorsque il s'agit de trois caractères ayant démontre qu'ils sont sur la pression de la sélection sexuelle chez *E. diurnus* on ça intéressé à faire une étude qui pourrait répondre à deux questions : Existe-t-il une corrélation entre les signaux du mâles et la préférence femelle pour ces signaux ? Et puisque les études fait auparavant différent par rapport au trait préféré par les femelles dans les différentes populations on voudra savoir si ces différences répondent-elles a une divergence de direction de la sélection sexuelle parmi les populations des *E. diurnus*?

Introduction

De nombreuses études mettent en évidence que la sélection inter-sexuelle porte sur l'évolution de signal mâle ou d'autres traits sexuels masculins. En effet, ce processus peut influencer une variation de signal mâle parmi des populations, ce qui peut être impliqué dans la divergence observée en ces populations, dans le processus ci-dessus continu jusqu'à la spéciation. Plusieurs études ont donné la preuve que la sélection sexuelle peut arriver à causer dite spéciation (Masta et Madison, 2002; Carson, 2003 ; Boul *et al.* 2006; Rodriguez *et al.* 2006 ; Boul *et al.* 2007; Cure *et al.* 2009). Mais, une manière de commencer à étudier les divergences observées dans une même espèce c'est de se focaliser sur les préférences dans le choix du partenaire, car cet événement est très fréquent dans les populations naturelles. Lorsqu'elles divergent parmi les populations, celles-ci sont considérées comme d'importantes sources d'isolation reproductrice pendant la spéciation (*e.g.* Rundle *et al.*, 2005). La sélection sexuelle peut aussi provoquer une divergence rapide des traits sexuels associés à l'acquisition des partenaires (Darwin, 1971 ; Fisher, 1930 ; Andersen, 1994). Un important modèle biologique où s'évalue le rôle de la préférence des femelles comme porteur de variation des signaux a été chez les anoues et les orthoptères, les signaux acoustiques produits par les mâles jouent un rôle central dans le choix des partenaires. Les mâles appellent pour attirer les femelles et les femelles discriminent entre les partenaires potentiels sur un large choix basé sur la structure du comportement d'appel mâle (*e.g.* Whitney & Krebs 1975; Popov & Shuvalov 1977; Ryan 1980; Hedrick 1986; Simmons 1988).

L'hypothèse que le choix du partenaire est important dans l'évolution des signaux a cinq prédictions relatives à préférence des femelles. Ces prédictions sont : 1) Pour les préférences proches, -en faveur de valeurs intermédiaires sur la valeur extrême- la valeur de la moyenne du signal correspondrait aux valeurs préférés par les femelles (Ritchie, 1996 ; Shaw, 2000 ; Mendelson et Shaw 2002 ; Gerhardt, 2005ab). 2) La puissance de la préférence influencerait le niveau de correspondance entre les valeurs préférées et la valeur moyenne. 3) La puissance de la préférence influencerait la variation des trait du signal. 4) Lorsque l'on compare les préférences proches versus les préférences ouvertes (open préférences), ce qui favorise les valeurs extrêmes du seuil, ce dernier, serait associé avec la variabilité la plus basse du signal et 5) Pour les préférences ouvertes qui diffèrent en puissance ou signal, les

trait des signaux devraient se modifier vers les valeurs préférées (Houde et Endler, 1990; Endler et Houde, 1995 ; Simmons *et al.*, 2001).

Les premiers indicateurs sont les différences présentes dans les signaux sexuels parmi les diverses populations d'une espèce. Afin de tester l'hypothèse du choix de partenaire, il faut commencer par la constatation des diversifications dans les signaux sexuels chez les mâles et les divergences dans les préférences des femelles pour les signaux sexuels parmi les diverses populations de l'espèce. Et ensuite, il faut confirmer les observations avec des études génétiques pour pouvoir parler d'un vrai processus de spéciation (e.g. Boul *et al.*, 2007)

Ainsi, pour tester la participation de la sélection sexuelle comme le facteur qui explique la variation dans les signaux d'une espèce, nous avons choisi l'espèce de sauterelle *E. diurnus*, espèce habitant tout au long de la région Sud-est de la France et dont le nombre de syllabes produites par phrase par les mâles pendant le comportement de parade varie d'une population à l'autre montrant un type de *cline* géographique (Duijm, 1990; Busnel, 1963). Les mâles chantent à partir de la stridulation, chaque mouvement des ailes (un aller-retour) produisant une syllabe (Dumotier, 1963). L'ensemble des stridulations réalisées une après l'autre correspond à une phrase ou chant d'appel (Figure 1).

Des études réalisées séparément dans des populations différentes de cette espèce montrent des différences importantes dans la sélection intersexuelle (Ritchie, 1996 ; Berg et Greenfield, 2005 ; Greenfield et Snedden, 2002). De plus, il n'existe aucun rapport sur le contact entre les individus des différentes populations. Cette espèce de sauterelle ne volant pas, les premières études sur cette l'espèce ont rapporté très tôt que les différentes populations sont isolées (Busnel *et al.* 1952). L'isolation des populations, les différences de signaux entre les populations et les études des préférences des femelles pour différents traits acoustiques sont des indicateurs de l'action de la sélection sexuelle en faveur d'un processus de spéciation.

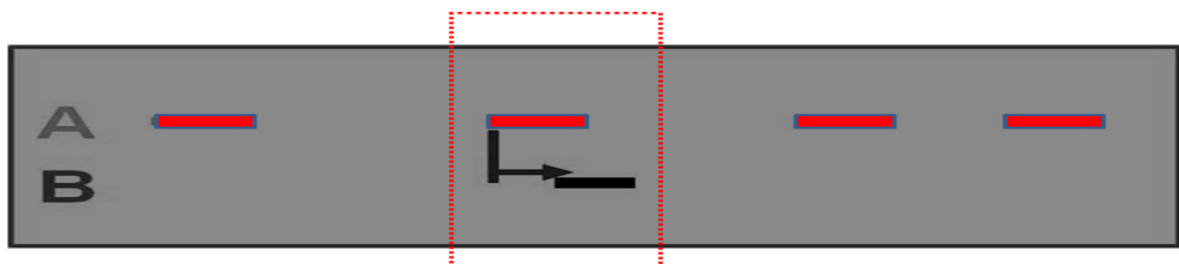


Figure 1 - Les barres de la lettre A correspondent aux chants émis par un mâle. En dessous, la barre de la ligne B correspond au chant d'un autre mâle émis à proximité de celui émis par le

mâle A. La zone en pointillés entoure la section de cette interaction entre les mâles, un décalage d'appel lorsqu'un (A) représente un chant précédent (*en premier*) et la barre B un chant postérieur (*en deuxième*).

Observer les différences géographiques dans les traits sexuels est relativement commun, mais on ne connaît que très peu de choses à propos des préférences des femelles pour les mâles (e.g. Endler et Houe, 1995). Ce chapitre est une étude comparative qui a évalué la puissance de la sélection intersexuelle pour différents traits des mâles chez *E. diurnus* ayant été préalablement observés significatifs par rapport la préférence des femelles dans d'autres études (Ritchie, 1996 ; Berg et Greenfield, 2005). Nous nous sommes intéressés à la préférence des femelles pour les signaux acoustiques émis par les mâles dans les processus de choix du partenaire selon différents critères présentés ci-dessous.

1) *La préférence pour les nombre de syllabes.* Une préférence femelle chez *E. diurnus* envers ses congénères a été démontrée par Ritchie (1991; 1996). Cette préférence est basée sur le nombre de syllabes émis par phrase comme un aspect du chant qui caractérise chaque population et qui diverge entre les populations. Les chants ont été classifiés comme monosyllabiques pour des populations où les mâles emmètront des phrases qui ont 1 ou 2 syllabes et polysyllabiques pour celles qui ont au moins 3 syllabes. Ritchie a mis en évidence une préférence des femelles pour le nombre maximal de syllabes contenues dans les phrases chant d'une population donnée. L'étude a été réalisée sur deux types de populations, celles avec des chants monosyllabiques (département de l'Hérault,) et celles avec des chants polysyllabiques (Sauto, département des Pyrénées Orientales). De plus, la réponse de la population femelle des hybrides (Pyrénées-Orientales et Valensole x Haut-Provence) envers les chants des hybrides a aussi été confirmée.

2) *L'effet de la priorité : la préférence pour les chants en premiers.* D'autres études centrées sur un autre caractère acoustique ont été réalisées chez *E. diurnus* par Greenfield (1994) et Berg & Greenfield (2005). Il s'agit de l'effet de la priorité (*precedence effect*). C'est un phénomène particulier et complexe, consistant en un comportement de régulation du rythme où les femelles, lorsqu'elles sont en présence de 2 mâles qui chantent, ont une préférence pour le premier de deux chants (*chant en premier*), émis juste avant celui d'un autre mâle voisin (*chant en deuxième*) (Snedden et Greenfield, 1998). Cet effet est considéré comme une voie sensorielle dans la perception chez les femelles (Wytenbach et Hoy, 1993). Les études ont seulement été réalisées sur des populations monosyllabiques (*chants de ± 1*

syllabe) mais, il a été montré que les femelles ont une préférence pour les mâles ayant émis plus des chants en premiers que les autres (Greenfield *et al.* 1997). Chez les mâles, la durée de l'intervalle entre le chant en premier et le chant suiveur peut aller quelque milliseconde à plusieurs secondes (Minckley et Greenfield, 1995). Il a été suggéré que l'effet de la priorité influence fortement la variation du comportement acoustique chez les mâles puisque dans l'intervalle de temps pendant lequel le chant émis par un mâle sera considéré comme suiveur, les mâles éviteront de chanter. Ainsi il doit exister une corrélation entre la période où les mâles ne chantent pas et les chants en premiers préférés par les femelles. C'est à dire que nous prédisons que la période de silence des mâles et le décalage préféré par les femelles doivent être proches ou égaux puisque l'on s'attend à ce que les mâles évitent de produire des chants inefficaces, (suiveurs) (Greenfield, 1994ab).

3) *La préférence pour le rythme.* De plus, le rythme est un caractère fortement sélectionné puisque c'est un indicateur de la puissance d'un mâle. Il a été observé chez *E. diurnus* que le rythme, a été un aspect préféré par les femelles. En effet cet aspect compris comme le taux d'appel (SSR_T *standardized singing rate*) et la régularité des émissions des chants (SSC_T *standardized singing constancy*), dans une population monosyllabique à Saint Jean de Bueges, France (Berg et Greenfield, 2005). Pour renforcer cette idée, Busnel (1956) a montré que les mâles ayant émis plus de chant dans certaines périodes données, ont été les mâles les plus préférés par les femelles, ce qu'il a nommé de *dominance acoustique et sexuelle*. Nous avons donc considéré comme important d'évaluer la préférence des femelles pour différents rythmes du chant.

D'autre part, chez les mâles, la communication acoustique à l'intérieur d'une population est dynamique et des ajustements effectués en réponse à la concurrence pour attirer les femelles entraînent des variations dans les signaux d'appel et complexifient la préférence des femelles chez cette espèce Greenfield et Snedden (2003).

Ajustements chez les mâles.

Des ajustements ont été observés chez *E. diurnus* et d'autres espèces de sauterelles que les mâles utilisent la sélection pour ajuster leur chant d'appel et augmenter l'incidence de chants en premiers Greenfield et Snedden (2003). Les mâles sont confronté à un dilemme en raison de la densité des voisins chantants : Ils doivent soit(1) ajuster leurs rythmes d'appel en réponse à tous les chants voisins et ainsi réduire fortement le taux de leurs propres chants d'appel ou bien (2) s'obliger à faire des ajustements de rythme pouvant amener à réaliser dans

la plupart des cas des émissions de chants inefficaces, dits « chant suiveurs ». Ils résolvent ce problème avec une stratégie d'attention sélective envers seulement certains individus (Greenfield, 1994).

Ainsi, autant les ajustements du nombre de syllabes de chaque appel que les différences dans les intervalles entre les chants de deux individus vont affecter la perception des signaux par les femelles. On s'attend à ce que les mâles d'une population donnée, feront attention aux traits préférés par les femelles de leur population et essayerons de faire les ajustements correspondants. Ces ajustements peuvent consister en l'inhibition de émission d'un chant, c'est la *réinitialisation inhibitoire*, est un mécanisme de décalage de phase qui n'affecte que la période d'un appel (ou une phrase) et qui peut empêcher l'émission de chants suiveurs en compensant grâce à une *attention sélective* qui consiste à ne faire attention qu'à certains voisins (voir Pollack, 1998 ; Romer et Krush, 2000), probablement, les plus proches ou les plus compétitifs (Greenfield, 1994)(voir description détaillée dans la section *méthodes*).

Préférences des femelles et gradients d'un même trait.

Il faut faire attention à la gamme de valeurs testées lorsque l'on teste la préférence des femelles avec les méthodes des tests à deux voies. En effet, on risque de perdre une partie de l'information et de faire des constats incorrects si l'on se base sur seulement deux valeurs du trait (deux valeurs extrêmes). Il faut donc considérer une plus grande étendue dans les valeurs des traits choisis en utilisant un test à deux voies qui englobe une plus grande gamme de valeurs que peut prendre un trait et être soumis à la préférence des femelles (Wagner, 1988). Ce travail a mis en valeur l'importance d'étudier de manière plus fine les préférences pour un trait en particulier (*e.g. Rythme d'appel*). Les variations parmi les populations peuvent se centrer sur les variantes d'un même trait.

Pourquoi divers traits sont-ils sous la pression de la sélection sexuelle? La préférence des femelles joue-t-elle un rôle dans les préférences divergentes par rapport aux traits des mâles? Nous pensons qu'en conséquence de l'isolation il existe une divergence dans les signaux acoustiques amenés vers différentes directions provoquées par la pression de la sélection intersexuelle. Nous avons ainsi, comme objectifs pour ce travail, de constater la puissance de la sélection sexuelle en évaluant chez *E. diurnus*, la préférence des femelles et la correspondance avec les émissions des mâles à l'intérieur de quatre populations différentes.

Nous avons donc considéré deux prédictions comme hypothèses: 1) c'est qu'il existe une corrélation positive entre les caractéristiques du signal d'avertissement des mâles à l'intérieur de chaque population et les caractéristiques du signal préféré par les femelles de cette population. 2) Les patrons des traits préférés par les femelles sont divergents au sein de différentes populations et les mâles réagissent en conséquence, en répondant à un trait acoustique qui correspond à celui préféré par les femelles de leur population mais, qui divergent par rapport aux autres populations

D'après cette étude, nous suggérons qu'effectivement, la sélection sexuelle peut être la responsable d'une telle évolution chez *E. diurnus*, et que ceci peut expliquer les variations observées dans les signaux mâles amenés à travers une divergence dans la préférence des femelles. Soit dans les variantes d'un même trait acoustique ou soit favorisant plus un trait acoustique par rapport à un autre dans les différentes populations.

Nos premières observations, en comparant les différents traits et populations dans une seule étude, appuient la théorie du choix de partenaire comme le moteur de l'évolution des signaux chez les mâles. En effet, ce travail représente la première approche d'une étude, qui a pour objectifs d'analyser si les signaux des mâles diffèrent significativement parmi les diverses populations et s'il existe une préférence pour les signaux des mâles locaux par rapport aux signaux d'autres populations, ceci comme base pour la réalisation de futures études plus complexes qui impliqueront la phylogénétique de l'espèce et finalement confirmer de manière plus contondante les tendances de la participation des femelles observées dans cette étude.

Matériels et Méthodes

Étant donné que la préférence des femelles est un facteur potentiel qui peut mener à des différences dans les signaux sexuels observés chez les mâles d'une espèce, nous avons donc cherché un modèle qui nous permettrait de tester ceci. Une espèce potentielle est la sauterelle d'*E. diurnus*, car il existe des variations importantes dans les caractères acoustiques des signaux chez les mâles, et que ceux-ci sont impliqués dans le choix du partenaire. Donc, nous avons effectué des protocoles expérimentaux qui permettent d'évaluer les deux éléments

impliqués dans le processus de la communication : les émetteurs de ces signaux (les mâles) ainsi que les récepteurs des signaux (les femelles).

Nous avons réalisé ces études avec des expériences de choix à deux voies, basées sur les distances et hauteur du le processus naturel de phonotaxie. C'est un test qui permettait la discrimination potentielle entre deux caractéristiques acoustiques d'un signal spécifique (*voir dispositif expérimental en « Y. »*). En parallèle, nous avons exécuté des expériences de compétition chez les mâles qui nous ont permis de mettre en évidence si les signaux d'appel effectués par les mâles correspondent aux traits préférés par les femelles. Ceci a été fait pour diverses populations afin de vérifier s'il existe des différences dans la sélection sexuelle parmi les populations.

Dans un premier temps, nous avons réalisé des expériences analogues pour chaque population afin de confirmer tout d'abord, s'il existe ou non une corrélation entre la préférence de femelle pour un trait du chant des mâles. A travers des différentes populations, nous avons examiné la corrélation entre les caractéristiques de la préférence des femelles et les caractéristiques exposés par les mâles dans leurs émissions acoustiques. Nous nous sommes intéressé de constater, identifier et repérer les différences des de la préférence des femelles parmi les divers populations.

Généralités de l'espèce

L'espèce choisie pour ce travail a été la sauterelle *Ephippiger diurnus*, (Orthoptera: Tettigonidae). Nous étudions en particulier des populations qui ont été récoltées dans différents sites des Pyrénées dans la frontière de la France et l'Espagne. Le système d'accouplement de l'espèce a lieu au sein de structures de mâles regroupés pour chanter (*chorus*). Il y a des petits regroupements qui varient dans le nombre des individus (3-8) à l'intérieur des buissons. Ces regroupements peuvent représenter une agrégation passive. Il n'y a pas de l'évidence de défense de territoire ni formation de lek (Stiedl et Bickmeyer, 1991), mais on considère que leurs chants ont comme but d'attirer les femelles et ce normalement tout au long de la matinée. Ces chorus se forment dans les arbustes près de la forêt ou dans la garrigue à la lisière des végétations plus abondantes.

Le chant est uniquement diffusé par les mâles qui le produisent par stridulations en frottant l'une contre l'autre des élytres, dont une porte des dents cuticulaires qui frappent une

nervure saillante sur l'autre (Busnel, Dumortier et Busnel, 1956). Chaque mouvement provoque un chant ou syllabe de 100-150 ms environ (fig. 3). Chez *E. diurnus*, il existe une importante variation dans les caractéristiques du chant consistant précisément dans le nombre de syllabes émises (*différences produites mécaniquement par les nombre de fermetures alaires effectués par phrase*) (Busnel, 1956; Oudman *et al.* 1990; Ritchie 1995). Ces variations à l'intérieur d'une population sont de \pm une syllabe. Mais ce même phénomène présente des variations géographiques importantes. A ce sujet, il y a une importante division: il y a des zones où les populations émettent un maximum de deux syllabes (*mono ou bisyllabiques*) et des populations où le nombre est un gradient qui va de 2 à 8 syllabes (*polysyllabiques*). Au sein de cette dernière zone existent les variations inter-populationnelles plus importantes (Duijm, 1990).

Populations étudiées

L'objectif de cette expérience étant de constater si les caractères des chants des mâles et des préférences des femelles coïncident ou non entre les diverses populations, six populations géographiquement isolées ont été évaluées. Ces populations montrent des chants divergents dans le nombre de syllabes contenues dans leurs phrases. Toutes les populations étudiées dans ce travail étant constituées d'individus élevés au laboratoire, on peut penser que les différences inter populationnelles observées dans la sélection sexuelle sont d'origines génétiques et non environnementales.

Les six populations choisies sont réparties géographiquement en trois groupes. Un premier groupe comprend trois populations, situées à très courtes distances les unes des autres (de ?? à ?? km). Il s'agit de Montauban, Cigalère et Vilamós. Le deuxième groupe comprend deux autres populations très proches géographiquement en terme de distance (6 km) mais très isolées l'une de l'autre en raison du relief de la région, il s'agit de Col de Puymorens et l'Hospitalet. Le troisième groupe comprend une seule population, Col de Mantet, éloignée du premier groupe de 264 km (voir carte figure 2).

Ces groupes ont été faits selon des critères de divergence dans les chants trouvés dans ces populations. D'après l'étude géographique de Duijm (1990), nous pouvons identifier deux grandes zones géographiques importantes: une zone où le chant des individus contient de une à deux syllabes, c'est-à-dire très une faible variation dans le nombre de syllabes émises (zone

FV) et une autre zone où le nombre de syllabes peut aller de deux à huit syllabes et présente donc une plus grande variabilité (zone AV).

Les populations Montauban, Cigalère et Vilamós sont dans la zone FV. Col de Mantet se trouve dans la zone AV, et les deux autres populations (Col de Puymorens et l'Hôspitalet) se trouvent à la frontière de ces deux zones (Figure 2 - Carte qui montre la localisation des populations étudiées. La ligne en pointillés marque la zone de transition par rapport au nombre de syllabes contenues dans les phrases du chant des mâles : AV zone ample variation et FV zone de faible variation. Les numéros sur la carte correspondent à la liste des populations situées en bas à gauche et l'altitude de chaque population.).

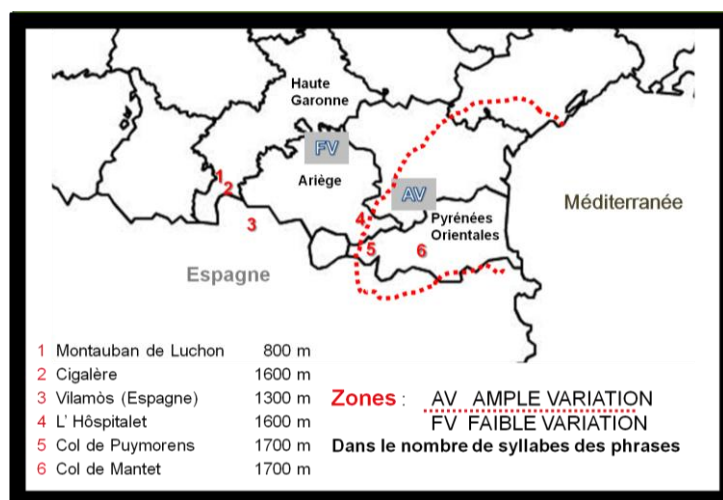


Figure 2 - Carte qui montre la localisation des populations étudiées. La ligne en pointillés marque la zone de transition par rapport au nombre de syllabes contenues dans les phrases du chant des mâles : AV zone ample variation et FV zone de faible variation. Les numéros sur la carte correspondent à la liste des populations situées en bas à gauche et l'altitude de chaque population.

Protocole préliminaire

Enregistrement du chant type de chaque population. Afin d'avoir un échantillon appartenant à chaque population, nous avons enregistré le chant d'un mâle de chaque population choisi au hasard. Ce mâle a été isolé dans une cage cylindrique (10,30 cm diamètre X 11 cm de hauteur). Les cages sont construites avec de la moustiquaire afin de faciliter les enregistrements du chant de l'individu. Un microphone condensateur d'ultrasons (model

CM/16 CMP fréquence de $\pm 3\text{dB}$ 20-150 kHz; Avisoft Bioacoustics; Berlin, Germany) a été placé à 10 cm, à l' hauteur du mâle et orienté dans la direction des élytres. Le microphone a été relié à un convertisseur analogique numérique (modèle UltraSoundGate 400-16; Avisoft BioAcoustics) et nous avons effectué des enregistrements d' une durée de 10 minutes une fois que le mâle avait commencé à chanter. L'enregistrement a été effectué avec un ordinateur portable en utilisant le processeur de signal BatSound Pro 4.0 (Peterson Elektronik AB ; Uppsala, Suède).

De cet enregistrement, nous avons récupéré une portion du chant d' appel typique du mâle pour procéder à la création de différents stimuli acoustiques utilisés dans les tests de phonotaxie femelle (fig. 3) et dans la réponse concurrentielle dans les tests de mâles. Pour l' exécution de l' enregistrement nous avons utilisé le programme BatSound 4.0, à 16 bits et 500,000 échantillons·s⁻¹. Cette procédure a été effectuée pour les cinq populations qui composent cette étude. Les caractéristiques des phrases (chants) de *E. diurnus* qui peuvent potentiellement varier sont les suivantes: (1) la longueur de la phrase qui correspond au nombre de syllabes émises (2) la longueur d' intervalle inter-syllabique (3) la longueur des syllabes contenues dans la phrase (**fig. 3**).

Caractères évalués

Les caractéristiques choisies lors de l' évaluation sont trois caractéristiques qui peuvent potentiellement être soumises à la pression de la sélection sexuelle chez les différentes populations d' *E. diurnus*. Ces traits étaient : 1) *rythme rapide versus rythme standard* 2) chants en *premier versus en deuxième* (« Effet de la priorité ») 3) *nombre des syllabes maximal vs standard*.

Rythme. Il a été montré chez plusieurs autres espèces que le rythme peut être sujet à la sélection intersexuelle. Des études ont été faites chez les criquets hawaïens (Shaw, 1996a, 2000) ; chez le papillon *Achroia grisella* (Jia et al 2000) et le crapaud *Pseudophryne bibronii* (Mitchel, 2001). Des études réalisées par Busnel (1956) chez notre modèle d' étude *Ephippiger ephippiger* (= *E. diurnus*), ont mises en évidence que les mâles ont tendance à montrer une différence significative dans le nombre des chants émis à la minute. Pour appuyer cette idée, il existe en plus des recherches faites sur des chorus dans lesquels il a été observé que lorsqu' un mâle est intégré au chorus, les autres participants ont tendance à accélérer leur

rythme (Berg et Greenfield, 2005). Majoritairement, les femelles font attention à l'énergie ou puissance du signal.

Effet de la priorité. Une autre caractéristique d'intérêt, est un trait particulier du comportement déjà trouvé dans certaines populations, qui consiste chez les mâles à émettre des chants en premier, suivis de près par un deuxième, (Stiedel *et al.* 1994, Greenfield *et al.* 2004) avec des décalages qui peuvent varier de 30 à 900 ms. Ces derniers intervalles de décalages entre le premier chant et deuxième varient entre les populations. Ces intervalles correspondent à la perception de la femelle, l'effet de la priorité. En effet la femelle ignore le deuxième chant. C'est pour cela qu'il y a une inhibition du chant chez les mâles juste après le stimulus sonore précédent. Les chants en deuxième seront donc des chants non attractifs pour les femelles (voir **fig. 1**) (Greenfield *et al.* 1997).

*Nombre des syllabes.*Le troisième caractère considéré pour s'évaluer est le nombre maximal de syllabes contenues dans le chant d'une population (Ritchie, 1996). Pour ce trait ont été pris en compte les enregistrements précédents, réalisés chez les mâles provenant des différentes populations et ainsi afin de déterminer le nombre moyen et le nombre maximal de syllabes correspondant. A partir de ce travail nous avons édité les trois stimuli à évaluer : 1) les nombres de syllabes dans les phrases 2) le rythme, 3) l'effet de la priorité. Avant de les éditer nous avons enregistré un mâle de chaque population pour avoir un stimulus réel avec le rythme (nombre de phrases par minute) et le nombre des syllabes plus fréquent. Nous avons évalué les réponses des individus envers un stimulus créé à partir du chant de sa propre population. Les détails de stimuli et les variations effectuées se trouvent dans la **table 1**. Ainsi, pour la présentation durant les tests de discrimination des femelles et pour la réponse des mâles les stimuli étaient structurés de manière suivante (**figure 4**):

Nombre de syllabes « *standard* » (*le mode*) vs nombre de syllabes maximale contenues dans le chant.

Zone (**AV**), Col de Mantet : 4 syllabes vs 5 syllabes; Col de Puymorens : 3 syllabes minimum vs 4 syllabes maximum et pour l' Hôspitalet : 2 syllabes vs 3 syllabes.

Zone (**FV**) pour toutes les populations (*Vilàmos, Cigalère*): 1 syllabe vs 2 syllabes

Préférence pour le chant en premier vs préférence pour chant en deuxième (150 ms de séparations entre les deux chants, d'après les résultats Greenfield et Snedden, 2002)

Rythme rapide vs rythme standard. Pour population zones (AV) 1.40 vs 2.10 s et pour populations zone (FV) 0.75 vs 1.40 s

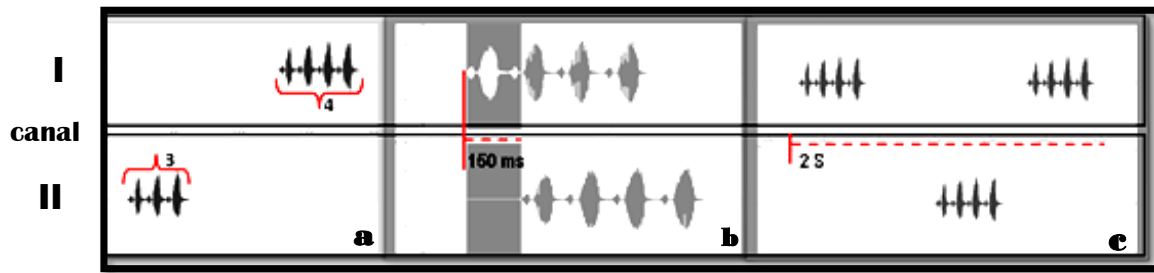


Figure 3 - a) stimuli édités qui représentent au canal I un chant de 4 syllabes et au canal II un chant de 3 syllabes. b) stimuli qui représentent au canal I un chant *en premier* qui précède un chant *en deuxième* émis au canal II. c) stimuli qui représentent en canal I un chant avec un rythme plus élevé que celui du canal II, en effet dans 1 s le mâle du canal I a émis deux chants pendant qu'au canal II dans la même période de temps, le mâle a émis seulement un chant.

Protocole général

a) Émission des stimuli.

Tous les stimuli ont été émis de la même manière avec l'aide du logiciel BatSound 4.0 et ont été émis à 90 dB à une distance de 60 cm. Cela était vérifié à l'aide d'un sonomètre (modèle CEL-430/2; Casella Kempston, UK); (plan de réponse en fréquence 30 à 20 000 Hz). Au début de l'essai de chacun des stimuli effectué et pour chacune des populations, l'intensité de l'émission du stimulus a été calibrée et vérifiée. Les émissions étaient réalisées avec des haut-parleurs (UltraSound BioAcoustics) placés sur une base en bois à l'extrémité de chaque bras du « Y ». Pour la diffusion, nous avons branché les haut-parleurs à un ordinateur équipé du logiciel Batsound 4.0 qui a aussi servi à la création des stimuli. L'ordinateur était équipé avec un programme de conversion de signaux analogiques en signaux numériques et une carte entrée et de sortie (DAQCard6062E, National Instruments;) (Austin, Texas, USA) reliée à un amplificateur de courants multi-canaux (Avisoft BioAcoustics) sur lequel se branchent les deux fils électriques qui alimentent les haut-parleurs qui diffusent les signaux acoustiques (Berg & Greenfield, 2005).

b) Étude de la phonotaxie chez les femelles.

Les femelles qui étaient maintenues dans leurs boîtes individuelles dans une pièce séparée des mâles étaient déplacées tous les jours entre 9h et 12h30 le matin jusqu'au

laboratoire d'essais fournissant des caractéristiques environnementales de lumière et de température (25-27°C) similaires à celles de la pièce d'élevage. Ce laboratoire était séparé en deux chambres, une où restaient toutes les femelles en attente de l'essai du jour et une autre, où s'effectuaient les tests de préférence des femelles de manière individuel. Pour chaque femelle, les réponses de phonotaxie positives ou négatives aux caractéristiques mentionnées ci-dessus ont été enregistrées et évaluées, de façon indépendante pour chaque population. Toutes les évaluations ont été réalisées avec des femelles âgées d'au moins 15 jours après la mue adulte. La technique de réponse à deux voies (*Y-maze*) a été utilisée pour cette étude de préférence. Le « *Y-maze* » a été construit avec des bâtons en bois circulaires de 97 cm de long et 1 cm de diamètre avec une base de 70 cm long de chaque bras. Le « *Y-maze* » a été placé sur une base circulaire en hauteur (1 m), endroit où été libéré la femelle. Ainsi, elle pourrait prendre la décision de monter à la base et aller librement vers une des deux extrémités. Depuis la base circulaire vers les extrémités, il y avait un angle d'élévation de 60 cm (Greenfield & Snedden, 2003). Au bout de chacun des bras du « *Y-maze* » les haut-parleurs diffusaient les deux stimuli, un avec le standard comme témoin et l'autre avec le stimulus à évaluer (par exemple, pour le Col de Mantet ceci était 6 syllabes, qui correspond au nombre maximum de syllabes dans cette population). Si après 1 minute la femelle n'avait pas encore monté la base, le test était annulé et on le refaisait à la fin de la session de test de cette journée. Afin d'éviter un problème de fatigue ou d'habituation, seuls trois tests étaient effectués par jour. De plus, pour éviter un biais de côté (*gauche ou droit*), l'émission du stimulus à évaluer a été choisi au hasard à chaque fois pour chaque femelle. Enfin, chaque jour les haut-parleurs étaient changés de place pour éviter l'influence des interférences ou différences imperceptibles qui auraient pu altérer ou biaiser la réponse. Au total, ont été évaluées pour les trois caractères, 25 femelles Col de Mantet, 24 de Cigalère et 30 de Vilamòs.

Tableau 1 - variations effectuées pour chaque stimulus acoustique correspondant au test de chaque population. Les croix de taille majeure représentent les valeurs du trait élevé testés

Stimulus Population	Rythme rapide vs standard	Chant en premier vs deuxième	Nombre de syllabes Maximal vs plus fréquent
Col de Mantet	X 1.40 vs X 2.50	→	X X
Col de Puymorens	X 1.40 vs X 2.50	→	X X
L'Hôspitalet	X 1.0 vs X 2.0	→	X X
Montauban	X 0.75 vs X 1.40	→	X X

0 1 2 s
5 30 600 900 ms
1 2 3 4 5 6

Variation de la préférence pour ces chants émis en premier en fonction du gradient de décalages entre deux chants mâle.

En particulier nous avons fait une étude plus fine de la réponse femelle à l'effet de la priorité. Afin de déterminer le seuil du décalage entre le chant en premier et le chant suiveur que les femelles sont capables de détecter et le niveau de préférences pour les différents décalages dans les diverses populations, nous avons réalisé une expérience suivant le même protocole en faisant des tests de phonotaxie avec 4 décalages différents. A Col de Mantet et Col de Puymorens, de la zone variable (AV) ou polysyllabique : 30 ms, 150 ms, 400 ms, 600 ms et 900 Ms. A l'Hôspitalet, Cigalère et Vilamòs, zone mono ou bi-syllabique (BV): 30 ms 80 ms, 150ms, 400 ms et 600 ms. Au total nous avons évalué pour l'effet de la priorité 8 femelles du Col de Mantet, 4 du Col de Puymorens, 3 du L'Hôspitalet, 2 du Montauban et 3 du Vilamòs. Ainsi, un total de 4 essais de phonotaxie a été réalisé par stimulus par femelle. La répétition du test de discrimination a comme objectif donner une puissance plus importante aux réponses observées dans la préférence d'un trait déterminé, surtout quand les données existantes sont faibles. Plus on fait de répétitions plus on a de certitude sur la préférence d'un trait particulier. Par la suite, nous avons calculé le pourcentage total de préférence pour chaque stimulus par femelle puis par population.

c) Expériences des signaux des mâles

Chaque mâle a été évalué individuellement, placé dans une pièce isolée des femelles et la réponse a été mesurée entre 15 et 30 jours après la mue adulte pendant l'été 2010 dans un laboratoire à température régulière allant de 22 à 27 ° C, si la température de la pièce sortait de cet intervalle, l'expérience n'était pas effectuée.

L'étude a été faite dans des conditions environnementales naturelles dans un laboratoire isolé mais permettant l'entrée de la lumière naturelle et indirecte du soleil. De cette façon, le comportement de chant d'appel se produit avec une plus grande vitesse et fréquence.

Puisque certains mâles sont très sensibles aux déplacements, certains d'entre eux s'arrêtaient de chanter lors du déplacement. Un groupe de mâles chantant situé à 7 m de distance recréait l'ambiance naturel d'un chœur et permettait une reprise du chant du mâle déplacé plus facile et rapide afin que nous puissions tester ses réponses. Puisque les mâles ont tendance à chanter à une certaine hauteur dans les buissons (Busnel, 1956), pendant le test, le mâle focal était enfermé dans une boîte qui avait un bâton de bois de 15 cm de hauteur sur lequel il pouvait grimper, entouré d'un filet qui permettait d'enregistrer leur chant.

Un haut parleur était placé à une distance de 60 cm à la même hauteur du mâle. Le microphone a été placé à 10 cm du mâle focal et calibré à 90 DB. L'équipement utilisé est le même que celui utilisé pour les tests femelles et décrite précédemment.

Tous les tests ont commencé 10 minutes après que le mâle ait commencé à chanter. Dans les cas où un mâle n'avait pas chanté durant les 10 premières minutes de test, le chant standard de sa population était diffusé via un haut-parleur pour le motiver.

Afin de reconnaître chaque individu et chaque population, un nom avec un code unique accompagné d'un code de population a été attribué à chacun au moment de la mue adulte.

Toutes les évaluations ont été faites le matin avec des intervalles de 15 minutes entre chaque test jusqu'à ce que nous ayons enregistré la réponse aux 5 stimuli différents :1) *Nombre maximal de syllabes*, 2) *nombre standard de syllabes*, 3) *rythme rapide* 4) *rythme lent*, 5) *rythme standard*.

Les détails des stimuli utilisés dans chaque population sont décrits dans le tableau 3. L'enregistrement de la réponse de chaque individu a été faite séparément. Le nombre total d'individus qui ont répondu à ce test était pour : Col de Mantet n= 6, Col de Puymorens Oriente n= 7, L'Hôspitalet n= 3, Cigalère n=21 et Vilamòs n= 14.

Analyses de données.

a) Préférence des femelles

Pour l'ensemble des tests de phonotaxie, phonotaxie basés sur la répétabilité, nous avons d'abord calculé le pourcentage global de préférence pour chaque stimulus pour chaque femelle et par la suite obtenu la valeur moyen de chaque population. Lorsque la préférence d'un trait a dépassé 50 % était considéré comme un caractère préféré, en dessous de 50 % sont considérés comme des caractères non préférés. Ensuite, nous avons comparé le pourcentage de la préférence pour les trois caractères acoustiques entre les différentes populations. Nous avons effectué une analyse avec le test binomial) Le résultat nous montre s'il y a une différence entre les 5 populations. (*Exemple : la pop A = la pop B mais est différente des pops C, D et E*).

b) L'analyse de la réponse acoustique des mâles

Pour chacun de différents stimuli acoustiques et pour chaque population, comprenant le nombre total d'individus, nous avons calculé les moyennes des valeurs de la réponse des mâles analysés. Des corrélations ont été effectuées à partir des valeurs de ces moyennes. Nous avons établi un critère d'intervalle (100 ms et 999 ms) pour les réponses des mâles envers les stimuli. Lorsqu'il y avait un chevauchement entre le stimulus et le chant du mâle (*focal*) (chant < avant 100 ms), le chant de mâle *focal* n'était pas pris comme réponse. Au delà de 1000 ms, nous avons aussi éliminé la réponse, car nous l'avons qualifié comme un manque d'attention, où émission en solo.

A l'aide du logiciel MINITAB nous avons fait une corrélation statistique qui compare la relation coïncidant entre les traits acoustiques émis pendant les tests et la préférence femelle pour ce même trait. Nous avons pris les valeurs moyennes de la population pour créer la corrélation. Finalement, avec l'aide du logiciel SigmaPlot nous avons réalisé la représentation graphique de ces corrélations pour les divers traits acoustiques afin d'observer les similitudes et dissimilitudes entre les 4 populations étudiées.

Résultats

A partir de cette étude nous avons confirmé qu'il existe bien des similitudes et des différences dans la sélection sexuelle, tant dans la sélection intersexuelle que dans la sélection intra-sexuelle, et cela entre les différentes populations de *E. diurnus*. Néanmoins, les résultats des traits des mâles et préférence des femelles, à l'intérieur de chaque population, se ressemblent dans les traits acoustiques émis par les mâles et les traits préférés par les femelles. Nous avons constaté que les variations les plus importantes trouvées sont parmi les populations de la zone **AV** (*ample variation*) et les populations de la zone **FV** (*faible variation*) (voir carte : **figure 2** section de méthodes). Toutes les populations étudiées dans ce travail étant constituées d'individus élevés au laboratoire, on peut penser que les différences inter populationnelles observées dans la sélection sexuelle sont d'origines génétiques et non environnementales.

Chant type des populations

Concernant les caractères intrinsèques du chant utilisés pour l'émission, l'évaluation et la comparaison du chant typique de chaque population, nous avons confirmé l'existence des mêmes différences que celles déjà observées par Duijm *et al.* (1990).

a) *La longueur de la syllabe*: La différence réside principalement dans la durée de la syllabe du chant (*chaque pulse ou stridulation*) et l'intervalle inter syllabique (*l'espace entre la première syllabe et la deuxième dans une phrase*) (voir **fig. 1** méthodes et **table 1** résultats). Cet intervalle est en *moyenne* plus long dans la zone de variation plus faible (**FV**) ($150 \pm$ ms), comparé à celui de la zone d'ample variation (**AV**) où le nombre de syllabes sont plus courtes ($90 \pm$ ms environ). La longueur des différentes syllabes contenues dans un même appel varie d'à peine quelques millisecondes chez un même individu. Nous avons choisi de mesurer de façon constante la deuxième syllabe de la phrase, bien qu'il a été noté que les principales différences se situent dans la première syllabe (nous avons observé dans les oscillogrammes que l'amplitude dans les premières syllabes était faible), autant chez les populations bi-syllabiques que polysyllabiques, en ce qui concerne les éléments suivants. Nous considérons que la deuxième syllabe est une mesure plus fiable parce que la première syllabe de la phrase n'a pas l'amplitude et la longueur du les autres syllabes de la phrase. Il faut observer la figure

1 pour pouvoir le repérer où La première syllabe, montre aussi des variations individuelles chez une même population (observations *préliminaires*).

b) Nombre de syllabes: Nous constatons que le nombre de syllabes contenues dans les phrases du chant chez les diverses populations correspond bien à la description faite par Duijm (1990). Il semblerait donc que ce trait n'ait pas changé au fil des décennies. Cependant, nous avons trouvé des différences dans le nombre de syllabes chez les populations polysyllabiques de Col de Puymorens et surtout de Col de Mantet où il y a une très grande variation inter-individuelle concernant la quantité de syllabes observées dans la plupart de leurs phrases. Il y a des mâles qui présentent un *mode* de trois syllabes, d'autres, quatre ou cinq et même parfois six syllabes. Néanmoins, nous observons qu'il existe une forte tendance à conserver un certain nombre de syllabes à l'intérieur d'une population. En même temps, au cours des analyses des oscillogrammes, nous avons observé chez les populations polysyllabiques comme les Col de Mantet qu'au niveau intra-individuel, les mâles montrent fréquemment cette variation où les phrases des mâles peuvent être constituées de ± 1 syllabes, ce qui signifie que chez un même mâle, son chant peut aller de trois jusqu'à cinq, même si la plupart de temps ses émissions en contiennent quatre. Cette information n'est pas surprenante, car chaque syllabe représente un mouvement des ailes, donc d'un point de vue moteur, un individu est capable de « moduler » avec une certaine limite la quantité d'occasions (= nombre des syllabes) où il ouvrira et fermera ses élytres au cours d'un appel.

c) Intervalle inter-syllabique: Nous avons rencontré des différences dans le chant d'appel chez quelques populations, au niveau des espaces inter-syllabiques. L'espace inter-syllabique représente le temps écoulé entre le début d'un cycle de stridulation et le début du cycle suivant dans la même phrase. Les populations des deux régions divergentes, Cigalère et Vilamòs qui appartiennent à la zone FV et la population Col de Mantet de la zone AV, ont curieusement la même période (22 ms) bien que la distance entre cette dernière et les autres de la zone FV soit de 376 km. Ceci contraste avec Mountauban qui est juste 4 km plus loin, mais à une altitude différente et où nous avons observé la différence la plus remarquable par rapport au reste (0.95 ms vs 22 ms). Un taux de biodiversité plus élevé, telles d'autres espèces d'orthoptères ou une végétation différente peuvent expliquer ce phénomène puisque le chant d'une autre espèce qui émet un chant similaire pourrait se confondre. Ceci n'est pas adaptatif du point de vue reproductif. Le coût impliqué est important si pendant le choix de partenaire, l'individu se dirige vers un chant appartenant à une autre espèce et pas vers leurs congénères. Les populations de l'Hôspitalet et de Col de Puymorens diffèrent seulement de ± 10 ms alors

que les populations se situent à seulement six km, ce résultat est étonnant d'autant plus qu'ces deux populations se trouvent justement à la frontière entre les zones AV et FV.

En plus, une analyse sur la fréquence, réalisée avec le test de Tukey HSD montre que la population de Montauban se distingue encore et présente des différences significatives, en relation avec les autres populations de la zone du FV. Par rapport à Cigalère, il y a une différence significative (32.1 kHz, $p=0.011520$). En revanche pour Vilamòs (33.6 kHz, $p=0.59147$) ce n'est pas significatif mais diffère avec Mounauban. Entre Cigalère et Vilamòs nous observons en effet, des différences non significatives ($p=0.9682$).

Expérience de phonotaxie chez les femelles

Les réponses des tests de discrimination sur la préférence chez les femelles pour les *traits naturels* versus les *traits exagérés*: rythme, nombre maximal de syllabes et chants en premier n'ont pas été très contrastées.

Les résultats de discrimination ont montré que les femelles sont attirées par les trois *traits exagérés* testés. Nous avons donc observé que la préférence pour les différents traits a été supérieure à 50 % dans presque toutes les populations. Dans la population du Col de Puymorens, le pourcentage de la préférence le plus élevé a été de 75 % pour le nombre maximal de syllabes (*voir tableau 2*)

Cependant, le nombre de femelles étudiées pour chaque population n'étaient pas les mêmes ce qui rend une comparaison stricte entre eux difficile à faire. Toutefois, ont été observées certaines différences qui montrent une tendance plus en faveur d'un trait que d'un autre. En effet, le nombre d'effectifs que nous avons obtenu diffère, c'est à dire que la quantité des femelles évaluées n'était pas la même et a posé un problème pour pouvoir faire des comparaisons et des attestations plus solides.

Nous avons trouvé un pourcentage égal entre la préférence pour les chants en premier et le nombre maximal de syllabes chez Col de Mantet. A Vilamòs, la préférence a été très similaire pour les trois traits et à Cigalère et l'Hôspitalet nous avons observé un contraste plus élevé. Les résultats nous amènent à montrer une différence entre la population de Cigalère et Vilamòs, situées à proximité, et avec des chants de même type (FV), en principe des populations isolées plus récemment. A Vilamòs les femelles ne montrent pas de vraie discrimination, en conséquence, nous pensons que des potentiels croisements inter-

populationnelles sont possibles. Ritchie (1991 et 1996) avait déjà fait des expériences avec des hybrides pour tester la préférence pour le nombre de syllabes. Par contre, à Cigalère et l’Hôspitalet, il semble que les femelles montrent une discrimination plus remarquable, qui pourrait amener vers un *isolement reproducteur* inter-populationnel à savoir qu’il s’agit de populations isolées géographiquement mais qui peuvent encore potentiellement se reproduire. Pour chaque trait évalué nous présentons les pourcentages de préférences.

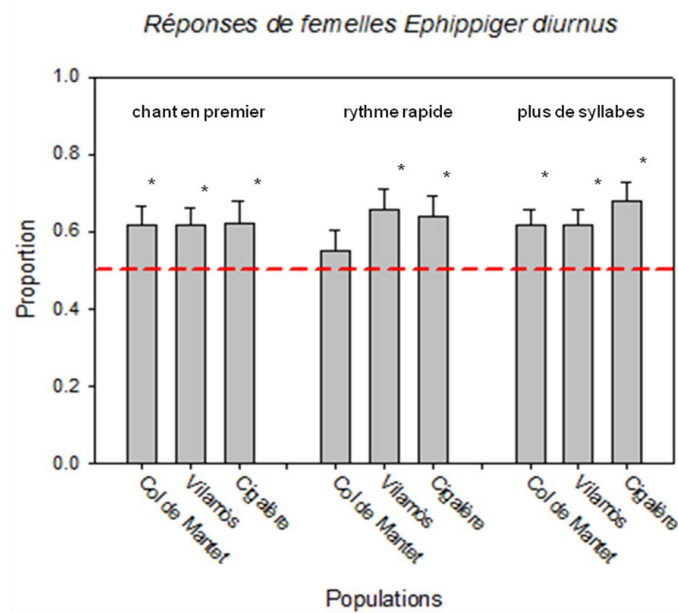


Figure 4 - Représente la comparaison de la préférence de la réponse des femelles pour les différents traits chez les différentes populations. V : Vilamòs, C : Cigalère, H : l’Hôspitalet, P : Col de Puymorens, M : Col de Mantet. Les étoiles marquent les traits ayant été significatifs dans le test de Mann Withney. Réponses correspondants à trois répétitions de tests de phonotaxie de discrimination bidirectionnelle par femelle où ont été évalués différents stimuli du chant du mâle.

1. Réponse au nombre de syllabes

En ce qui concerne l’évaluation du nombre maximal de syllabes contre le nombre standard de syllabes dans le chant, nous avons conclu que les femelles ont répondu à ce caractère positivement, il y a donc, une préférence pour ce trait. Même si selon la théorie de Fisher (1930), il y aurait une limite, au bout d’un moment la préférence pour le nombre des syllabes, tels qu’un trait exagéré, cessera. Les pourcentages de la préférence des femelles

pour le nombre des syllabes correspondants aux trois réplicats ont montré des tendances divergentes.

Une analyse statistique binomiale montre que des différences significatives existent dans toutes les préférences des populations pour le nombre de syllabes plus élevé observé ayant été émis dans les phrases des mâles d'une population donnée. Comme il a été noté par Duijm (1990), chaque population diffère dans ce trait. En réalité, le test a compris les deux longueurs de phrases (nombre de syllabes) les plus fréquentes dans le chant des mâles de chaque population. Ainsi, à l'Hôspitalet, il a été observé une préférence de 60% ($p=0.50000$) pour 3 syllabes *vs* 2; la tendance chez cette population est plus petite que dans la majorité des populations. A Vilamòs les femelles montrent 73 % ($p=0.0081$) et à Cigalère 80 % ($p = p=0.0020$) de préférence pour les chants de 2 syllabe *vs* 1 syllabe. Les différences observées à Vilamòs et Cigalère sont plus faibles que celles observées pour les autres populations. Ce résultat coïncide avec nos prédictions, étant donné que les deux populations se trouvent dans la zone FV où le chant des mâles contient au maximum deux syllabes.

A Col de Puymorens a été observé une préférence des femelles pour le nombre des syllabes de 92% ($p=0.0005$). Apparemment ce trait est significativement plus important que dans d'autres populations puisqu'il dépasse les 90% et diffère beaucoup de Col de Mantet montrant seulement 58% de préférence ($p=0.2706$). Ces résultats sont surprenants puisque ces populations appartiennent à la zone de FV. L'Hôspitalet est une population trouvée dans la région de transition proche de Col de Puymorens et où le contraste dans le pourcentage de la préférence est plus élevé (60 *vs* 92% respectivement). Cependant, à l'Hôspitalet, la population des femelles étudiée était très petite ($n = 5$), aucune conjecture à cet égard ne peut donc être faite.

2. Réponse à l'effet de la priorité (décalage à partir du chant)

Pour le test de l'effet de la priorité avec des chants en premier décalés de 150 ms, (Voir Greenfield et Snedden, 2002). Nous avons trouvé des différences entre les populations mais ces différences ne sont pas tellement contrastantes. La plupart des pourcentages de préférence pour le chant en premier dépassent 60 %, avec à Cigalère 68% ($p=0.0539$) et à Col de Mantet 67% ($p= 0.0758$) provenant de zones divergentes FV et AV où les tendances étaient significatives. A Vilamòs (60%, $p=0.1808$) de zone FV; Col de Puymorens (53%, $p= 0.5000$) et spécialement dans l'Hôspitalet (25%, $p= 0.9688$) contrastent avec le reste où

effectivement le test binomial n'a pas été significatif. Ces dernières populations se trouvent dans la zone de transition. Au cours d'une expérience plus précise avec des décalages de phases différents entre le chant en premier et le chant en deuxième nous avons rencontré des différences importantes.

Effet de la priorité à différents décalages. Des résultats différents ont été observés avec cette expérience plus fine comprenant différents décalages (voir figure 4). Ceux-ci sont surprenants car ils nous ont permis de montrer que les femelles sont capables de distinguer des chants qui se suivent avec de très courtes périodes de temps (30 ms). Ce même phénomène a été observé chez des espèces d'orthoptères qui chantent en synchronie imparfaite (e.g. *N. spiza*, Greenfield et Snedden, 2003). Ainsi chez les femelles de *E. diurnus*, la limite extrême du décalage le plus long réalisé parmi les chants des deux individus a été de 600 ms dans les populations de la zone FV. En revanche, dans les populations de la zone AV cette limite arrive à 900 ms. Cependant, quand le décalage entre les deux chants dépasse 1100 ms, le chant du premier mâle n'est plus perçu comme un chant émis en premier et l'effet de la priorité disparaît pour laisser place à l'alternance. Le pourcentage de préférence pour un décalage particulier a varié de manière importante, notamment entre les populations des zones AV vs FV, contrairement à ce que nous avons observé à l'intérieur de chaque zone. La **figure 1** nous permet de comparer les populations d'une même zone (AV vs AV et FV vs FV). Les résultats montrent des différences par rapport à l'espace qui sépare le chant émis en premier des chants émis en deuxième ayant été plus repérés ou préférés par les femelles. Ainsi, la population de la zone de transition, l'Hôspitalet, montre une préférence plus importante pour les chants émis en premier, séparés de 600 ms (n= 4, 100%). Aussi, les résultats de cette étude montrent que les différences dans la préférence pour les chants émis en premier divergents par rapport à la distance à laquelle a été émis le chant émis en deuxième, ont été plus importantes dans la zone de FV. Le pourcentage maximum de préférence pour le chant émis en premier, séparé d'un décalage de 400 ms avec les chants émis en deuxième, était à Montauban de 75% (n=2) et à Vilamòs de 67 % (n= 3). La séparation entre les chants émis *en premier* et chant émis « *en deuxième* » est inférieure à celui de la zone d' AV où la plupart des femelles ont préféré les chants séparés par 900 ms avec un pourcentage de 67% à Col de Puymorens (n= 11) et 88% à Col de Mantet (n= 21) (voir **Fig. 1**). Puisque le nombre de femelles testées ne nous a pas permis de réaliser des analyses statistiques, nous montrons ici uniquement une tendance de la préférence des femelles établie par le critère d'une préférence positive envers un trait donné. Pour toutes ces femelle dont le pourcentage de préférence a dépassé les 50 %,

cela indique que dans la plupart des occasions (>50%), une femelle ayant fait le test de discrimination, s'est dirigée vers ce trait durant les trois réplicats effectués pour chacun des décalages (**Fig. 1**).

3. Réponses au rythme

Les tests de discrimination entre un rythme rapide et un rythme naturel d'alternance ont montré qu'il y a également une forte préférence pour un rythme plus rapide dans toutes les populations chez cette espèce, nous observons dans l'ensemble, une préférence de plus de 60%. Exception faite de l'Hôspitalet, qui était à 55 %, donc légèrement inférieure aux autres. Sur ce critère de rythme, pendant les tests, nous avons seulement évalué la préférence pour un rythme rapide de 1.10 s pour les populations FV, et 2 s pour les populations AV. A partir de cela, nous pouvons alors conclure qu'il existe une tendance à préférer les mâles qui présentent un rythme plus rapide : ces mâles qui n'émettent pas beaucoup de chants en deuxième et donc chantent à intervalles plus larges et produisent des chants en « en deuxième ». Cette idée doit être interprétée avec précaution, premièrement, parce que les résultats obtenus ne montrent aucune différence significative et deuxièmement parce que le test de discrimination a été fait seulement entre deux rythmes, les plus extrêmes, mais sans évaluer des « *gradients* » entre les deux. En troisième lieu, puisque il peut y avoir des variations intra-populationnelles, que c'est un phénomène normal dans toute population, et nous nous sommes basés dans les valeurs de la moyenne des populations. Du fait des faibles quantités de données, nous ne pouvons affirmer une tendance directionnelle quelle qu'elle soit et nous observons diverses tendances dans les résultats chez les différentes populations.

Comparaison des réponses des femelles dans les diverses populations.

D'un point de vue comparatif, nous pouvons conclure que la préférence femelle montre une certaine divergence et que différents traits acoustiques peuvent être sous la pression de la sélection inter-sexuelle, bien que nous observions certaines tendances dans cette étude, il faudra réaliser plusieurs travaux de recherche pour pouvoir confirmer la puissance de nos observations.

Les populations qui se trouvent à proximité situées à seulement 6 km de distance ce sont les populations qui ont montré une préférence plus importante pour le nombre maximal de syllabes émises dans les phrases de leur population. L' Hôspitalet montre 60% de

préférence et Col de Puymorens 75%. Nous distinguons ici que Col de Puymorens présente pour ce trait le pourcentage plus important dans la préférence des femelles vers les trois caractères évalués. La seule valeur au-dessous de 50% s'est présentée à l'Hospitalet avec seulement 40% de préférence dans leur réponse correspondant à l'effet de la priorité. Mais à Cigalère nous observons 64% et à Vilamòs 61% de préférence, populations de la zone FV et à Col de Mantet avec 59%, population de AV nous considérons que c'est aussi un trait important. C'est à Cigalère (67%) et à Col de Puymorens (70%) où nous avons trouvé une forte préférence pour le rythme le plus rapide, en revanche à Col de Mantet il y avait seulement le 49% de femelles qui ont préféré ce trait. A Col de Mantet l'effet de la priorité et le nombre de syllabes ont été également préférés.

La population de Vilamòs est celle qui a montré la plus faible variation dans la préférence pour les trois traits acoustiques testés, le pourcentage de préférence a varié de seulement 3 %, néanmoins, la préférence dans cette population pour les trois traits a dépassée 50% (*voir figure 2*).

Bien que les contrastes sur la préférence pour les différents traits entre les populations des deux zones FV et AV, ne été pas très importantes. Nous considérons qu'il existe vraiment une importante divergence dans une étape initiale. Pour cela, nous recommandons de faire des études contemplant des discriminations avec des différents gradients de valeurs. En effet, c'est seulement avec un échantillonnage suffisant et une évaluation avec des gradients et des valeurs extrêmes bien définies que nous pourrons constater la vraie puissance de la préférence pour chacun des traits.

Suite à cette réflexion nous avons réalisé une autre étude avec des modulations sur l'effet de la priorité. Afin de comprendre la relation acoustique de « *chant en premier* » - « *chant en deuxième* », nous avons analysé la durée de séparation des chants où les femelles trouvent plus attirants les chants émis en premier que les chants émis en deuxième. Cette expérience nous a permis de montrer qu'il existe vraiment une différence dans la préférence sur ce trait, et que celle-ci peut jouer un rôle important dans la divergence des populations chez *E. diurnus*, en plus du rôle signalé sur la sélection intersexuelle (*voir figure 2*).

Expériences de réponses chez les mâles

Les populations d'*E. diurnus* présentent des différences importantes entre les deux zones FV et AV. Les résultats de ces expériences montrent que les chants sont différents d'une population à l'autre au niveau du nombre de syllabes, par rapport à l'intervalle d'émission entre les chants émis en premier et les chants émis en deuxième. Nous assumons que les ajustements effectués correspondent à une réponse positive lorsque les mâles ont écouté un stimulus et répondu dans l'intervalle de temps compris entre 100 ms et 2700 ms. Au-delà nous considérons que le mâle n'a pas fait attention au stimulus. Les ajustements réalisés sur les caractéristiques intrinsèques du chant, telles que la longueur du signal (longueur de syllabe) ou l'amplitude ne semblent pas se rapporter à des réponses à l'interaction mâle-mâle. Nous présentons ainsi les observations trouvées avec les signaux des mâles à l'intérieur de chaque population et aussi les ajustements effectués par les mâles vers un stimulus spécifique.

1. Réponse au nombre de syllabes

Bien que le nombre de syllabes est sujet à changement chez un seul individu, il y a des limites à l'expression de cette caractéristique, puisque nous observons que les populations de la zone de FV à chants de maximum deux syllabes ne sont pas capables de reproduire un chant avec des syllabes supplémentaires, seulement pour avoir écouté le stimuli avec des chants composées de trois syllabes ou plus. De même, les individus de la zone FV, en entendant un signal artificiel avec un nombre de syllabes moins important que celui de sa population, ne réagissent pas avec un ajustement particulier en diminuant le nombre de syllabes dans leurs phrases. De même, dans une population polysyllabique, certains mâles ont tendance à émettre des phrases dont le nombre de phrases correspond souvent au nombre maximum de sa population. Ces mâles ne changent pas ou ne réduisent pas le nombre de syllabes émises quand un autre mâle avec qui il interagit possède un chant contenant une ou deux syllabes de moins que le sien. De toute façon il y a un nombre de syllabes « *typique* » montré par la majorité des individus dans chaque population. A partir d'une comparaison entre les phrases émises par les mâles au stimulus du nombre de syllabes « *typique* » versus un nombre des syllabes « maximal » montré par les populations testées, nous pouvons dire que les mâles en dépit de différences, ne prêtent pas attention à ce caractère dans aucune des populations étudiées ni au niveau intra-populationnel ni au niveau inter-populationnel.

2. Réponse aux divers intervalles.

En ce qui concerne les modifications des stimuli, des mâles chantant de toutes les populations réagissent fortement à faire des ajustements à l'écart du stimulus émis.

Il convient de noter qu'ils réagissent à une gamme de durées déterminées, mais ces changements ne sont pas les mêmes dans toutes les populations. Tous les mâles de toutes les populations répondent au même stimulus, mais pas exactement de la même manière. Il faut signaler que dans les populations FV nous avons observé une augmentation de la latence de la réponse lorsqu'ils ont été exposés à des phrases de trois syllabes mais il n'en est pas de même dans les populations d'AV après exposition au même stimulus. Pour ce dernier groupe, la phrase de trois syllabes correspondant à la moins longue, est typique du chant d'appel de sa population. Apparemment, dans les populations où les phrases ont un nombre de syllabes plus important, nous n'avons pas observé un important changement (*voir tableau 3*, montrant une latence identique au Col Puymorens et seulement 46 ms dans le col de Mantet). Les réponses des mâles à un stimulus diffusant le chant « *naturel* » de la population ont été similaires dans les populations d'AV, Col de Mantet et Col de Puymorens. Les populations de FV, Montauban et Vilamòs ont montré une différence importante dans cette latence (*voir colonne 1 et 2 de la table 3*)

3. Réponses au rythme

En évaluant la réponse au rythme plus rapide vs un rythme naturel, nous avons observé que les mâles prennent moins du temps à émettre un chant initial quand ils sont exposés à un stimulus artificiel présentant un chant avec un rythme plus accélérée que lorsqu'ils sont exposé à un rythme naturel.

Dans la plupart des essais, les mâles réalisent une accélération dans leurs propres rythmes après l'exposition aux stimuli. Il faudrait analyser les réactions aux diverses accélérations de rythmes pour savoir quel est le rythme auquel les individus réagissent le plus et déterminer une réponse plus solide vers ce trait.

Corrélation entre signaux des mâles et préférence des femelles chez les différentes populations.

Nous montrons ci-dessous les résultats de la corrélation entre les réponses des deux sexes pour un même stimulus au sein de chaque population et ensuite le niveau de divergence présent dans cette corrélation entre les populations:

Tableau 2 - Montre les différents traits de mâles chanteurs analysés pour chacune des populations. Les valeurs représentées correspondent à la moyenne d'un échantillon d'un extrait du chant de trois minutes par mâle et par population.

Population	Zone FV			Zone AV		
	Montauban	Cigalère	Vilamòs	L'Hôspitalet	Col de Puymorens	Col de Mantet
Caractères du chant						
Nombre des syllabes standard <i>-mode-</i>	1	1	1	2	3	4
Longueur du syllabe <i>ms</i>	152	152	150	58*	63	53
Intervalle inter-syllabique <i>ms</i> *	95	22	22	47	36	22
Fréquence- <i>kHz</i> - + 12 <i>dB</i>	38.7	32.1	33.6	*	*	28.1
Délai de la réponse <i>ms</i>	471	510	357	556	844	978
<i>Valeurs moyennes</i>						

Tableau 3 - Représente les pourcentages de la réponse positive des femelles dans les tests de phonotaxie de discrimination bidirectionnelle où ont été évalués différents stimuli du chant du mâle chez les différentes populations.

Trait acoustique	nombre des syllabes		chant		rythme	
	maximal	vs standard	en premier	vs en deuxième	plus rapide	vs naturel
Population						
Cigalère	53	47	64.58	35.42	67	33
Vilamòs	62.49	37.51	61.66	38.34	65.83	34.17
L'Hôspitalet	60	40	40	60	55	45
Col de Puymorens	75	35	50	50	70	30
Col de mantet	59.9	40.1	59.9	40.1	61.29	38.71

1. Nombre maximal de syllabes vs nombre standard de syllabes dans les phrases

Nous avons observé une relation positive dans la préférence des femelles concernant la préférence du nombre maximal des syllabes parmi les diverses populations. Les pourcentages de la préférence des femelles pour ce trait sont montrés dans la **table 2**. Lorsqu'un mâle interagit avec un mâle dont le chant contient un nombre de syllabes supérieur au sien, celui-ci ne modifie pas le nombre de syllabes contenues dans son propre chant, même si l'on observe des fluctuations de ± 1 syllabe dans son chant naturel. Cependant, la plupart des mâles émettent des phrases avec un nombre de syllabes prépondérant (*mode*). De leur côté, les femelles ont répondu à ce caractère, puisque nous observons qu'elles préfèrent les stimuli avec un nombre maximal de syllabes. Par exemple, elles préfèrent des phrases de 5 syllabes (59 %) au lieu de 4 (41 %) à Col de Mantet. Nous avons finalement constaté que pour la population de Col de Puymorens et Cigalère, les femelles ont une tendance à préférer les phrases qui ont les nombres de syllabes maximaux présents dans leur propre population. Pour ces populations nos résultats appuient les observations de Ritchie (1996), qui a aussi observé que les femelles préfèrent le nombre maximal de syllabes contenues dans les phrases émises par les mâles de leur propre population. Dans son étude il a aussi observé la même tendance dans les populations hybrides. Par la suite, il faudrait réaliser des études sur la préférence en testant des phrases avec plus de syllabes que celles émises à l'intérieur de chaque population.

2. Préférence pour les chants en premier (Effet de la priorité):

Nos résultats montrent qu'il y a une correspondance importante entre l'émission de chant des mâles et la préférence des femelles par rapport à l'effet de la priorité. Nous pouvons constater tout d'abord qu'il y a une coïncidence entre le décalage de phase dans les chants d'appel des mâles et l'espace entre les chants pour lequel les femelles préfèrent le premier des deux chants (**tableau 3**). Lorsque l'on compare les différences du décalage entre « chant en premier-chant en deuxième » dans les 6 populations étudiées, nous observons des différences importantes parmi certaines populations et pas parmi d'autres (*voir figure 5*).

Le **tableau 4** montre la durée du décalage entre le *silence des mâles* et l'*effet de la priorité*. La période de silence effectuée par les mâles est le résultat d'un processus qui permet au mâle de décaler son chant pour éviter d'émettre ce chant juste après celui d'un autre mâle, qui serait alors inefficace puisque considéré par la femelle comme chant en deuxième. Les populations de zone de faible variation (FA) dont le chant contient moins de syllabes, ne présentent pas une variation importante et les femelles ont montré une préférence pour chants en premier où le chant en deuxième présenté un décalage de phase plus court; ceci sont à Vilamòs (♀400 ms vs ♂357ms) et à Mountauban (♀ 400 ms vs ♂471 ms). Dans les populations polysyllabiques avec une variation plus grande (AV), le décalage a été plus important par rapport aux populations de la zone de FV. Il existe une forte coïncidence entre ce que préfèrent les femelles et ce que font les mâles, nous l'observons notamment à Col de Puymorens (♀ 844 ms vs ♂844 ms) et à Col de Mantet (♀ 900 ms vs ♂978 ms).

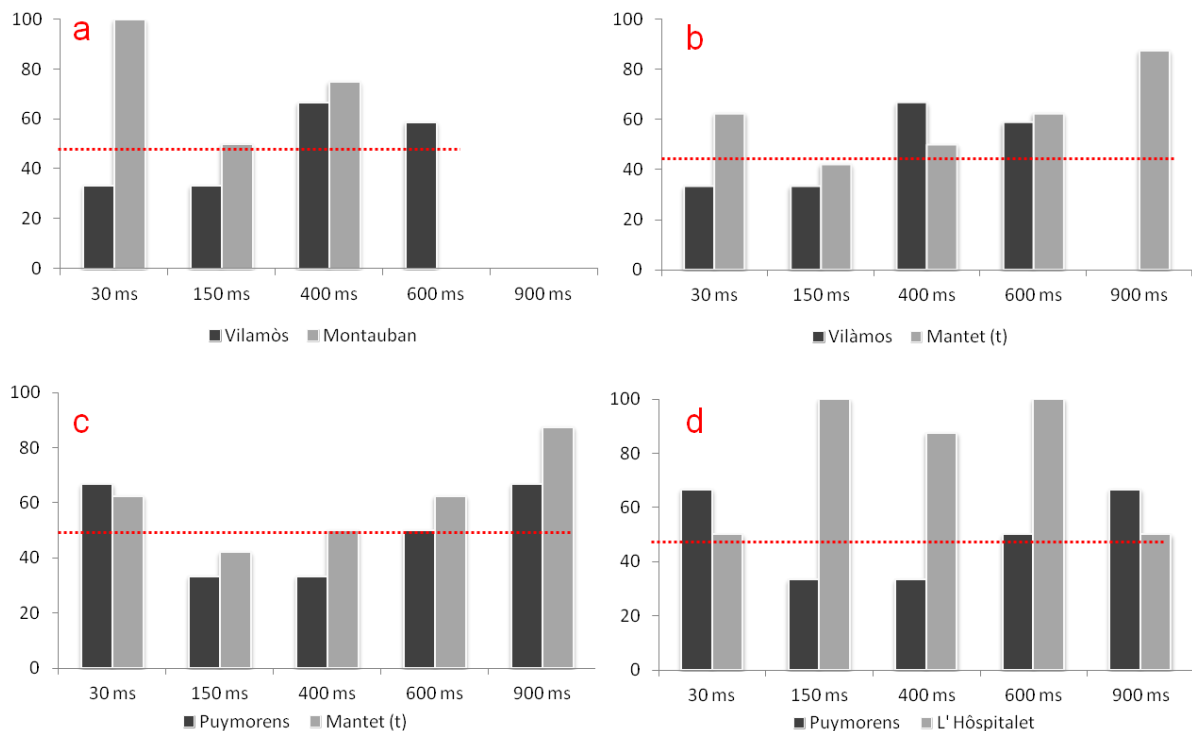


Figure 5 - Graphiques comparatifs sur l'effet de la priorité qui montrent la préférence femelle pour différents décalages des chants en premier-chants en deuxième. (a) Comparaison de deux populations de la zone de faible variation (FV) ; (b) la comparaison des populations des différentes zones AV et FV, séparées géographiquement par 346 km approximativement. (c) la comparaison des deux populations de la zone d'ample variation (AV) et; (d) Comparaison des populations trouvées dans la zone de transition isolées mais situées à courte distance 6 km.

Les périodes de silence ont été conservées dans toutes les populations. Les chants d'appel sont représentés dans la figure 4. Nous avons constaté qu'il existe une corrélation positive significative entre la préférence des femelles et le comportement des mâles avec l'aide d'une analyse statistique de Spearman (DC 0.949, $p = 0.0167$, $n = 5$). Dans la figure 5 nous observons une tendance géographique bimodale de cette corrélation où les points dans la figure représentent chaque population.

Tableau 4 - Valeur de la moyenne de la durée (ms) du temps nécessaire à la réponse des mâles de chaque population, aux stimuli correspondants au chant naturel de sa population comparé avec la réponse aux stimuli de trois syllabes. Dans la dernière colonne se trouve la durée du décalage entre chants préféré par les femelles.

Population	Chant naturel	Réponse à 3 syllabes	Effet de la priorité	Zone
* Valeurs de la moyenne	♂ décalage minimal	♂ décalage minimal	♀ décalage maximal	
1 Montauban de Luchon	0.471	0.865	0.400	FV
2 Cigalère	0.510	0.699	*	
3 Vilamòs	0.357	0.619	0.400	
4 L' Hôspitalet	0.556	0.719	0.600	
5 Col de Puymorens	0.844	0.844	0.900	AV
6 Col de Mantet	0.978	0.932	0.900	

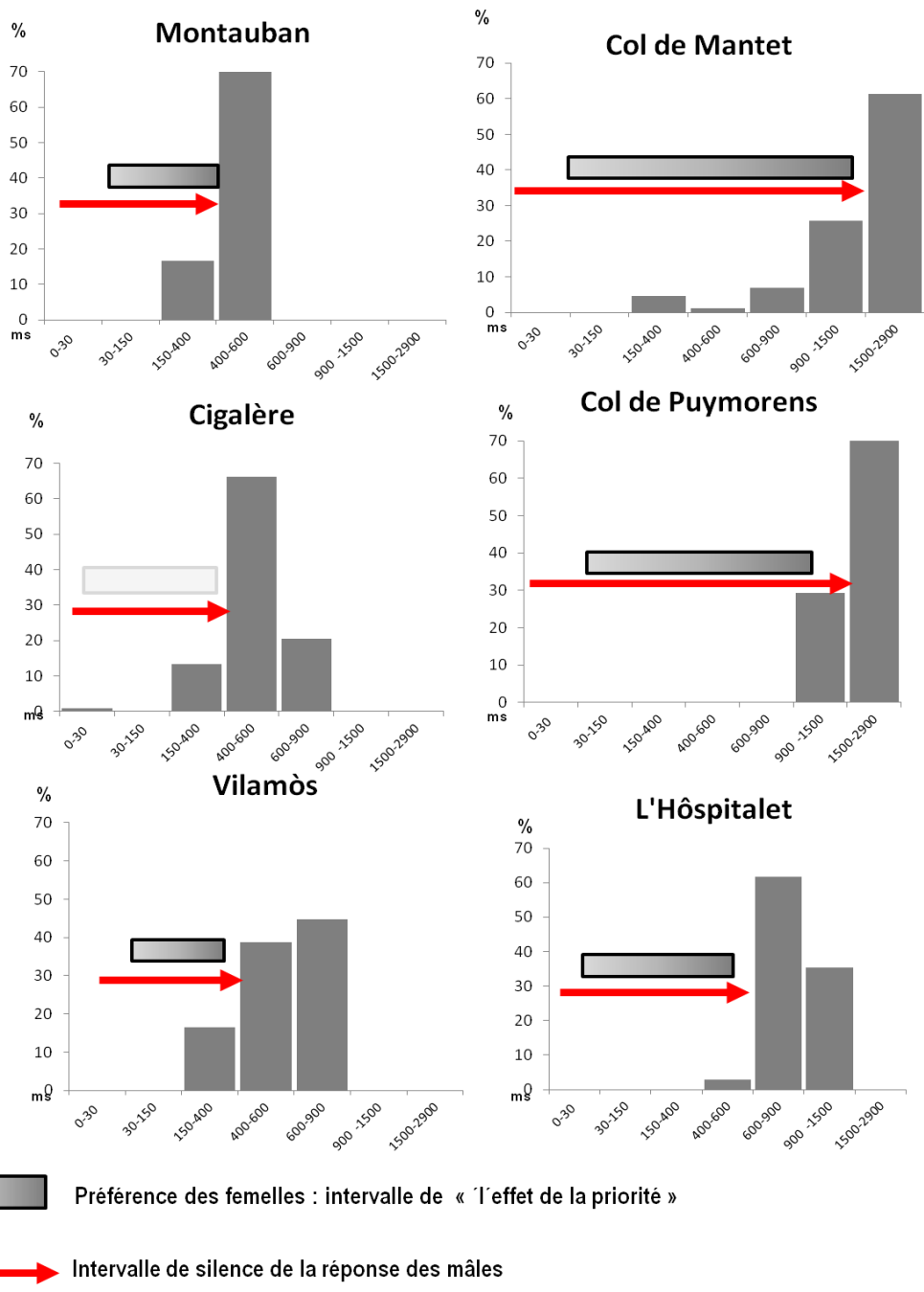


Figure 6 - Histogrammes montrant la distribution de la fréquence du chant d'appel chez *E. diurnus* dans les différentes populations. Quand il y a en chant en premier (en 0) les mâles évitent de chanter dans la période où ils peuvent être perçu comme chantant en deuxième par les femelles car, elles sont capables de les distinguer à partir de 30 ms. Dans les graphiques dans les rectangles horizontaux (*barre*) en gris on observe le niveau de correspondance de l'effet de la priorité chez les femelles dans chaque population avec le silence des mâles dans la ligne rouge. Ça veut dire que si un mâle ne peut pas chanter avec un rythme plus rapide, c'est-à-dire devancer son voisin, il sera préférable d'attendre et de chanter en alternance (d'après 1000-2700 ms).

Finalement, nous pouvons conclure qu'il y a toujours deux zones très bien différenciées par rapport au nombre de syllabes, bien que l'Hôspitalet peut représenter la zone de transition ou hybridation. Des études génétiques permettront de constater que d'autres populations avec des nombres de syllabes intermédiaires peuvent aussi exister. Et des études génétiques permettront de confirmer nos observations sur l'effet de la priorité et qu'elles présentent des variantes inter-populationnelles.

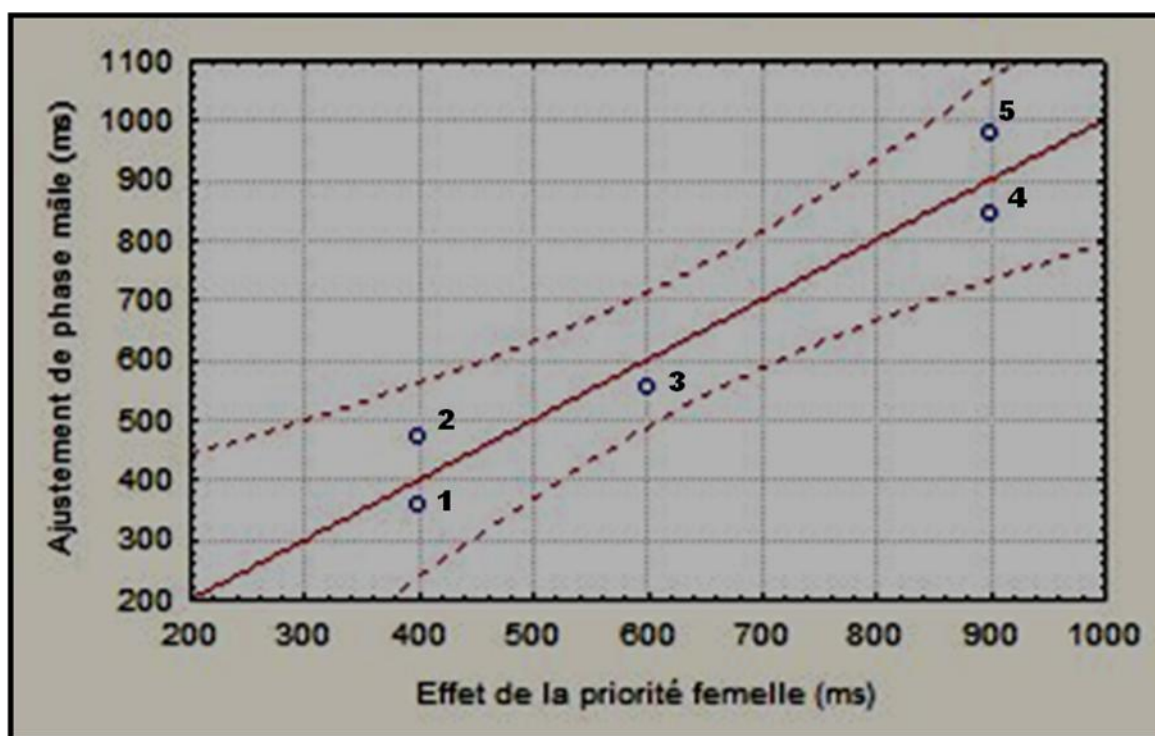


Figure 7 - Corrélation entre la préférence des femelles et les caractéristiques présentées par les mâles. Gauche: corrélation positive de la préférence chez les femelles pour les chant en premiers (*valeur du décalage maximal*) et l'ajustement de décalage chez les mâles (*décalage minimal* entre *chant en premier-chant en deuxième*). Cercles avec les numéro correspond a les divers populations :1-Montauban,2-Cigalère,3-Vilamòs , 4-l' Hôspitalet, 5- Col de Puymorens, 6- Col de Mantet.

Discussion

Nous avons bien constaté que les préférences des femelles peuvent être l'agent de variation de la forme du chant chez *E. diurnus*, car les résultats de l'effet de la priorité ont démontré une coïncidence avec les traits de mâles (*décalage chant en premier-chant en deuxième*). Ainsi, Concernant les principaux objectifs de cette étude, les résultats confirment la première des deux hypothèses du travail : Il y a bien une corrélation intra-populationnelle en ce qui concerne ces deux caractères de la sélection sexuelle. Mais cette étude infirme la deuxième : il n'y n'a pas de corrélation inter-populationnelle pour tous les traits.

Nous avons confirmé que la plupart des types de variation dans les caractéristiques du chant d'appel des mâles sont liés à la préférence des femelles pour ces mêmes propriétés acoustiques. Particulièrement, la corrélation entre sexes dans le décalage entre chant *en premier-chant en deuxième*/effet de la priorité est très claire. Pour le cas du nombre des syllabes, nous avons observé une corrélation entre : nombre maximal de syllabes chez les mâles (où la moyenne est de +1 ou +2) et la préférence chez les femelles. Ces résultats s'observent dans plusieurs populations. En revanche, la plupart du temps les mâles émettent un nombre de syllabes inférieur à celui que préfèrent les femelles de la population. Pour le cas du rythme, nous pensons qu'il existe aussi une corrélation entre les sexes, les femelles préfèrent un rythme plus rapide et les mâles ont une tendance à augmenter leur rythme quand ils interagissent acoustiquement. Mais, pour vérifier cette tendance, il faudrait considérer l'évaluation de l'expression chez les mâles et la préférence des femelles sur des rythmes intermédiaires.

Dans ce travail nous avons observé déjà certaines tendances intéressantes : d'après les différences observées dans le chant des mâles de diverses origines, les résultats semblent indiquer que la différence la plus importante se trouve au niveau inter-populationnelle et pas au niveau intra-populationnelle.

La première différence observée se trouve dans la durée de la syllabe contenue dans la phrase d'appel des deux zones. Celles de faible variation (FV) durent 150 ms et celles de grande variation (GV) 100 ms. C'est bien connu que la durée de la syllabe est thermo-dépendante et peut varier de 70 ms (à 35°C) jusqu'à 400 ms (à 12°C) (Duijm, 1990). Mais, le

fait que cette étude ait été réalisée dans des conditions de température avec fluctuation de maximum ± 3 degrés, exclue la possibilité que la variation observée soit due à la température. De plus, d'une perspective intra-populationnelle ce trait est considéré comme stable puisque les différences observées sont minimales. Nos résultats concernant le nombre des syllabes coïncident dans toutes les populations avec ceux observés par Duijm (1990).

Cette étude remarque l'importance d'étudier les traits relatifs et fluctuants chez l'individu et entre les individus. Notre intérêt a été centré sur les ajustements de ces traits, qui peuvent répondre aux interactions compétitives entre les mâles, sur lesquelles la sélection sexuelle peut avoir une influence encore plus importante.

La variation importante trouvée, et surtout les fluctuations individuelles à l'intérieur des diverses populations, pourraient expliquer pourquoi chez *E. diurnus* les entre-croisements sexuels sont possibles lorsque les femelles n'ont pas le choix d'un partenaire conspécifique. (Ritchie, 1999). Il s'agit alors, d'une espèce dont seuil de préférence peut être très étendu. Une des explications données sur la conspécificité dans la préférence des femelles, est due aux périodes d'isolation très longues dans les diverses populations (Spooner et Ritchie, 1996). Ce n'est pas surprenant, qu'exposés aux diverses conditions environnementales, les traits présentés par les individus les plus favorisés, ne soient plus les mêmes dans les différentes populations actuelles. D'autre part, il est difficile de penser que les différences soient dues à l'altitude, puisqu'on peut trouver des populations de FV et de AV de 400 m jusqu'au 1700 m de altitude (Duijm, 1990). Chez les femelles, il paraît que la particularité individuelle est importante puisque plusieurs femelles ont fait des choix différents pendant les tests de discrimination. En même temps, la plupart des femelles montrent la même tendance tout au long des différents essais de l'étude. Ceci suggère de réaliser des études de répétabilité, sur la variation du choix des partenaires chez les femelles, pour mieux connaître les processus de leur choix (*e.g. polar diagrams*), et pourrait montrer de nouvelles influences sur la direction de la sélection sexuelle dans l'espèce (*e. g. Jennions y Petrie, 1997*). A ce propos, Greenfield *et al.* (2005) ont trouvé des différences significatives concernant l'identité des femelles. De son côté, Ritchie (1992) n'a pas trouvé de constance dans la préférence des femelles pour un nombre des syllabes dans la population d' *E. diurnus* du sud de Narbonne, *Aude France*. Ces différences individuelles peuvent expliquer aussi, en une certaine proportion, pourquoi dans cette étude les résultats n'ont pas été très catégoriques en faveur d'un trait en particulier. Cependant, on ne peut pas parler d'un processus de spéciation par renforcement (Ritchie *et al.*, 1989) puisque les réponses différentielles trouvées n'étaient ni catégoriques ni bimodales.

Concernant la répétabilité observée dans la réponse des femelles pour les chants chant en premiers (*effet de la priorité*), nous avons constaté dans cette étude que c'est un caractère qui est en train de co-évoluer dans les deux sexes. En fait, ce processus co-évolutif, pourrait avoir lieu à cause de l'intense capacité des femelles à choisir les mâles qui montrent ce type de caractère : assez particulier et assez critique par rapport au décalage de phase existant dans la relation chant chant en premier - chant chant en deuxième. Sans cette capacité réelle des femelles à distinguer ce trait, Greenfield n'aurait pas pu observer la préférence pour celui-ci dans ses diverses études sur *E. diurnus* (Greenfield, 1994 ; Greenfield, 2002 ; Berg et Greenfield, 2005, chapitre 3 de cette thèse). En analysant ce dernier aspect, nous avons trouvé des différences inter-populationnelles dans le décalage de phase du chant du mâle. Il est étonnant que le seuil de l'effet de la priorité chez *E. diurnus* soit si étendu alors que les femelles sont capables de percevoir un décalage de 30 ms. Concernant ce valeur de décalage le plus courte l on n'a pas trouvé de différence très importante entre les populations. En revanche, concernant la durée maximale du décalage, parmi les populations étudiées, on a trouvé plus de disparités. Par exemple : le pic du décalage sur lequel se trouve la préférence des femelle pour le chant en premier à l'Hôspitalet se trouve entre 150 ms et 400 ms, au Col de Puymorens, il est de 600 ms et au Col de Mantet il est de 900 ms.

Une possibilité d'exploration d'*E. diurnus*, consisterait à évaluer si l'alternance a une fonction de reconnaissance intra-spécifique (e.g. Alexander, 1975). D'autre part, si le caractère du *chant en premier-chant en deuxième* (*l'effet de la priorité*) aurait une fonction dans les interactions intersexuelles et intra sexuelles (Greenfield and Shaw, 1983). Chez les oiseaux les chants ont des composants beaucoup plus complexes, et ces distinctions entre les fonctions des différents caractères du chant ont été très fréquemment étudiées (Baker, 2008 ; Aubin *et al.* 2009). La période de silence effectuée par les mâles est le résultat d'un processus qui permet au mâle de décaler son chant pour éviter d'émettre ce chant juste après celui d'un autre mâle, qui serait alors inefficace puisque considéré par la femelle comme chant en deuxième. Probablement, cet intervalle de silence (allant de 0 à 1000 ms) permet de distinguer acoustiquement les chants « *en alternance* » (dont l'intervalle commence de 1000 ms jusqu'à 2700 ms) (voir histogrammes de la **fig. 4** (Greenfield, 2010).

Ces résultats observés chez les femelles par rapport à l'effet de la priorité (*chants chant en premiers-chant en deuxièmes*), nous amènent à réfléchir sur l'importance co-évolutive dans le système d'appel de l'espèce. Le fait de préférer ce comportement par rapport aux autres favorise son apparition (Greenfield, 2010). Par conséquent, son effet à long terme

sera de privilégier les mâles qui présentent plus de chants chevauchés. Il y aurait donc, une forte modification du système de chorus, laissant en retrait l'alternance, et devenant un chorus en synchronie imparfaite. Certainement, nous pouvons déjà établir qu'il existe chez *E. diurnus* un chorus du type mixte.

Concernant le nombre de syllabes émit au sein d'une population, il existe une relation intersexuelle, mais c'est une relation de +1 syllabes par rapport aux deux valeurs qui nous avons testé pour chaque population: il n'y a pas de correspondance exacte entre le nombre le plus fréquemment émit par les mâles, et le plus préféré des femelles. Selon les résultats obtenus dans cette étude, cette caractéristique n'intervient pas dans les réponses compétitives chez les mâles. Mais, par contre chez les femelles, il a une influence dans la plupart des populations. En effet, la préférence trouvée pour ce trait, a dépassé 50%. Ces résultats sont un peu contradictoires par rapport aux observations de Ritchie (1996). Bien que, nous avons testé le nombre des syllabes représentatifs de la population. Mais, nous n'avons pas testé les gradients possibles pour cette préférence.

Nous proposons que le nombre de syllabes soit, dans certaines populations de GV, le code de reconnaissance conspécifique, du fait qu'on ait trouvé *une mode* dans le nombre de syllabes de chaque population. Ce phénomène est indépendant de la fluctuation normale observée de ± 1 syllabe des chants des mâles de manière individuelle. Par exemple, au Col de Puymorens et à l'Hospitalet, le nombre maximal de syllabes a été le trait le plus important dans les tests de préférence des femelles. A l'Hospitalet *la mode* est de 2, mais plusieurs mâles émettent 3. Au Col de Puymorens *la mode* est de 4 syllabes et le maximum est de 5. Il s'agit pourtant de populations distantes de 6 km. Bien que le contact entre ces deux populations soit peu probable (Ritchie *com. personnel*), si celui-ci a lieu, cette différence pourrait générer une barrière comportementale dans les rencontres fortuites entre les individus, bien qu'au laboratoire les croisements entre les différentes populations soient possibles. Ce travail, n'a pas pris en compte une évaluation de la préférence pour un nombre de syllabes au delà du maximal observé dans chaque population. Mais, il est possible qu'il existe une préférence pour un nombre encore plus important que celui de la population, et qu'il s'agisse d'un trait exagéré. Par contre, il faudrait tester cette idée chez les diverses populations d'*E. diurnus* puisque, justement, il peut exister une tendance différente. En effet, les résultats obtenus du choix des femelles au sein d'un chorus, dans une étude postérieure à celle-ci (*chapitre 3*), au Col de Mantet, les mâles choisis émettent soit 3,4 ou 5 syllabes, les analyses statistiques ont donc confirmé ne pas être un trait significatif.

En outre, la réponse positive observée envers un rythme plus rapide, peut également faire partie d'un trait importante chez certaines populations. Dans la population de faible variation (FV) de Cigalère, il semble y avoir une préférence importante chez les femelles, pour les rythmes plus rapides, et aussi dans les tests chez les mâles, qui répondent plus rapidement au stimulus du rythme. Nous ne pouvons en tirer de conclusion certaine à ce niveau d'observation, mais une étude plus fine évaluant différents intervalles, montrera si le rythme est vraiment influent sur la pression inter et/ou intra sexuelle, et dans quelle mesure ça l'est chez certaines populations et pas chez d'autres.

Il est important de remarquer que chez *E. diurnus*, ce sont apparemment les compétitions acoustico-comportementales (traits relatifs et temporels) qui jouent dans la préférence des femelles. On se demande alors si, toujours chez *E. diurnus*, les femelles sont dotées d'une capacité à détecter tous les signaux que peut montrer un mâle, de savoir si ceux-ci sont liés à la compétition, et par conséquent, évaluer avec ce repère sa condition physique? Le reflet de la condition physique idéale doit être un ensemble de tous ces signaux. Il est possible donc que lorsqu'un mâle : 1) prend un rythme déterminé, 2) émet des chants chant en premiers et 3) montre un nombre de syllabes constant dans son chant (*nombre maximal présent dans sa population*), il serait un mâle perçu par une femelle, comme le mâle de meilleure qualité. Ou bien, que dans une population, seulement une de ces trois options, soit distinguée par les femelles, comme le repère de qualité attirant.

Considérant la préférence pour ces trois traits acoustique-comportementaux chez *E. diurnus*, deux possibilités peuvent expliquer la coexistence de signaux multiples dans les interactions intra-sexuels et intersexuels :

La première a son support dans la théorie des *signaux multiples*, qui propose que la valeur de l'information d'un signal augmente en ajoutant de nouveaux composants (Dawkins & Guilford, 1991; Elias *et al.* 2006). Alors que le choix du partenaire se base justement sur les signaux multiples (Candolin, 2003) et pas sur un seul et répétitif trait acoustique. Dans le cas d'*E. diurnus* les ajustements réalisés par les mâles sur les différents traits acoustiques, sont en fait des signaux présentant des changements fréquents: « constantes nouveautés/nouveaux composants ». Les mâles font des ajustements sur un traits et après sur un autre, et ce, en permanence (*e.g.* Thompson *et al.*, 2008).

La deuxième possibilité serait *l'influence des fluctuations environnementales* intervenant dans la perception des femelles où il y aurait des traits préférentiels selon les types fluctuations externes présent à certains moments. Quand on observe de nouvelles tendances, dans la préférence des femelles qui divergent, les populations finiront par présenter un véritable isolement, pas seulement géographique mais comportemental également. Des travaux sur le terrain de longue durée pourront prendre en compte tous les facteurs environnementaux et permettraient de tester ces impacts sur les signaux d'avertissement et la variance dans les signaux multiples (Jørgensen, 2005).

Mais par rapport l'influence qui peut avoir la sélection sexuelle, en réalité les quatre modèles cette théorie, peuvent expliquer la variabilité observée chez *E diurnus*. Le modèle de Fisher pourrait bien expliquer les différences trouvées dans les signaux des mâles et la préférence des femelles pour ceux-ci. L'évolution peut aller au hasard vers une des directions dans les différents traits acoustiques et occuper différentes positions dans la ligne d'équilibre du fisherien (Endler et Houde, 1994). Chez *E. diurnus* les signaux d'appel amènent les femelles vers un mâle, mais pas nécessairement vers l'accouplement, et à une reproduction. Néanmoins, dans le processus de phonotaxie, du fait qu'il s'agisse d'un signal acoustique de longue distance, la *voie sensorielle* est la plus plausible. Finalement, étant donné que la préférence des femelles influe la sélection sexuelle des traits des mâles, ce n'est pas étonnant d'observer dans la variation géographique que la préférence des femelles s'accompagne des changements correspondants dans les traits des mâles. De plus en plus il y a une augmentation des études dans diverses espèces qu'ont démontré partiel les mêmes constatations de cette étude. Ce travail représente donc, une base de recherche pour la réalisation de futures études plus complexes. D'un point de vue évolutif cependant, comme une étude comparative, nous avons réalisé une première exploration. Des études futures de phylogénie valideront et confirmeront ou non les tendances nous avons observées.

Conclusion

Conclusions

Les résultats trouvés dans les études développées ici ont des implications importantes sur les comportements de signalisation dans le contexte des systèmes de communication chez les insectes :

Les animaux communiquant par signaux acoustiques seront toujours affectés par l'environnement. En réalité, quelle que soit la relation interspécifique (*prédation, partage de niche auditive etc.*), les facteurs environnementaux produiront des variations ou des adaptations de la signalisation de l'espèce concernée. Nous avons constaté l'usage de deux mécanismes pour affronter les problématiques de la vie en groupe. Les deux ont lieu lors de la compétition mais se sont développés en réponse à différentes pressions de sélection.

Au niveau interspécifique, la sélection suscitera des mécanismes d'ajustement selon le(s) facteur(s) ayant le plus fort impact sur le système de communication. Comme nous l'avons montré, chez la pyrale *A. grisella*, les mâles sont capables de rester silencieux pour se protéger d'éventuels prédateurs et chez la sauterelle *E. diurnus*, le mécanisme de communication permet aux mâles d'émettre leur chant en premier, lorsqu'ils sont en compétition avec d'autres individus, afin d'améliorer leur chance de reproduction. Ainsi les préférences des femelles, par le biais de l'effet de priorité, affectent la signalisation chez les mâles *E. diurnus*.

Au niveau intraspécifique, chez la pyrale *A. grisella*, en situation de compétition la réponse de sursaut (« *startle* ») peut devenir un signal d'alarme. Cette réponse soudaine n'affecte pas fortement le rythme du signal lorsqu'il reprend et permettrait de scanner la scène acoustique afin de repérer si des chauves-souris sont présentes dans les alentours et d'estimer le risque de prédation.

Au niveau intrasexuel, nous avons constaté que dans nos deux modèles biologiques, chanter en groupe intensifie le taux de rythme de signaux des mâles et suscite l'évolution de stratégies compétitives de signalisation. Nous avons également constaté que les mâles *E.*

diurnus ajustent la phase du rythme des signaux par le mécanisme de *réinitialisation inhibitoire*, ce qui implique une augmentation de la fréquence des signaux émis *en premiers*. Aussi, chez *E. diurnus*, les mâles font face à la compétitivité par le biais d'une *attention sélective* en ne répondant seulement qu'aux signaux d'un ou deux de leurs voisins. Par ailleurs, il a été très intéressant d'observer que les interactions impliquant les mêmes individus ne restent pas stables au fil du temps, ni durant les changements de groupes. En revanche, nous n'avons pas constaté que les mâles modifient la longueur de leurs phrases (i.e. *le nombre de syllabes*) quand un voisin modifiait son chant, et ceci ni au sein du groupe (*population de Col de Mantet*) ni dans aucune autre des populations.

Au niveau intersexuel, nous avons constaté que les femelles gardent leur sélectivité au sein du chœur, et ce même si elles sont exposées aux chants de plusieurs mâles en même temps. En revanche, nous avons obtenu des résultats différents dans les tests de choix binaires par rapport à ceux obtenus au sein de l'arène avec divers groupes (voir résultats des parties 2 et 3 pour la population *Col de Mantet*). Par ailleurs nous avons observé, lors des tests de choix binaires, des différences interpopulationnelles en matière de préférence des femelles pour *le nombre de syllabes* (e.g. dans les populations *Cigalère vs Vilamos*).

Au niveau inter-populationnel, nous avons observé que les femelles de toutes les populations montraient une préférence pour le chant émis *en premier*. Ce caractère est par conséquent partagé par toutes les races du complexe spécifique d'*Ephippiger* (voir Ritchie 2001, Duijm 1990). Cependant, le seuil de sensibilité des femelles (écart entre le premier et le second chant) diffère parmi les populations.

Quant à la biogéographie d'*E. diurnus*, nos enregistrements confirment les différences connues au niveau du nombre des syllabes des chants des mâles: il y a une forte division entre la zone de FV (chant de faible variation -*monosyllabiques*) et AV (chants d'ample variation -*polysyllabiques*). (Voir *appendix A*). Nos observations sur les divergences populationnelles du chant, en matière de nombre de syllabes, correspondent à l'écart (*gap*) entre les races d'*Ephippiger ephippiger (cunii)* et *Ephippiger ephippiger (vitium)* (= *Ephippiger diurnus*) déjà signalé par Ritchie (2001) et Duijm (1990). La frontière entre ces races se situe au niveau du Col de Puymorens, dans les Pyrénées Françaises (Voir ligne pointillée carte partie 3). Les explications évolutives de l'existence de cette frontière sont liées aux changements climatiques et à l'isolation post glaciaire des populations (voir Ritchie 2001).

Perspectives

Du point de vue de la femelle

Dans cette section j'exposerai quelques nouvelles questions qui pourraient compléter la connaissance que nous avons de la complexité de la signalisation et du choix de partenaire chez *Ephippiger diurnus*.

Dans un milieu aussi bruyant que celui d'un chœur, il doit exister des signaux individuels plus repérables et perçus à de plus longues distances que d'autres. Il serait intéressant de savoir si ces signaux correspondent aux préférences des femelles. De plus, il serait également intéressant d'étudier si la perception longue distance des femelles fonctionne selon le même mécanisme que la perception courte distance : L'effet de priorité joue-t-il aussi sur les longues distances ? Est-il plus difficile de déterminer quel mâle a émis le chant en premier à longue distance ? Par ailleurs, à longue distance, des signaux différents de ceux utilisés à courte distance pourraient être impliqués dans l'attraction des femelles. Par exemple l'intensité ou la saturation des sons provenant d'un buisson par rapport à un autre pourrait entrer en compte. Les femelles sont-elles capables de distinguer des buissons comportant des taux différents de chants leader ?

Pour tester l'influence du facteur « distance » sur la préférence des femelles, des études de choix binaire impliquant les trois traits acoustiques (rythme, nombre de syllabes et chants en premier) et l'effet de priorité pourraient être conduites dans des arènes de tailles différentes. De plus le poids que donnent les femelles à différents traits pourrait varier selon les distances. Par exemple, à longue distance, lorsque les femelles comparent les buissons, l'intensité pourrait être le trait le plus déterminant pour leur choix. A l'inverse, lorsque les femelles comparent les individus à courte distance, c'est le rythme du signal qui pourrait être le plus déterminant. Enfin à une distance intermédiaire, avant de grimper dans un buisson, c'est le nombre de syllabe qui pourrait importer le plus et permettre une reconnaissance-vérification de présence de congénères.

Le mécanisme de phonotaxie a été étudié jusqu'à un certain niveau en laboratoire chez *E. diurnus*. Mais, comment-les femelles d'*E. diurnus* réagissent-elles lors des différentes étapes du processus de phonotaxie *in situ*? Une étude de terrain, combinant des conditions

contrôlées, des observations détaillées du processus de choix et la détermination des caractéristiques du chant des mâles, pourrait donner un aperçu de la réalité de cette problématique. Par ailleurs, sur le terrain, des facteurs environnementaux interfèrent dans toutes les étapes de la phonotaxie. Ainsi ces études de terrain pourraient également permettre d'explorer la discrimination et la localisation des mâles survenant avant le choix de partenaire. Par exemple, les caractéristiques des mâles chantants approchés dans chacun des buissons visités par les femelles, avant d'effectuer un choix, pourrait être mesurées. Ensuite, en étudiant la corrélation entre les préférences des femelles et les chants des divers mâles visités dans ces buissons un mécanisme fin de discrimination et de choix pourrait être établi.

Du point de vue des mâles

Lorsque les mâles se trouvent à l'intérieur d'un buisson, ils discriminent les chants de leurs voisins. Mais sont-ils également capables de discerner des chants des compétiteurs situés à distance, dans d'autres buissons. Si cette capacité existe, est elle identique à celle des femelles ? De plus, lorsqu'ils changent de buisson, les mâles doivent évaluer, d'un point de vue acoustique, les groupes occupant chacun des autres buissons atteignables avant de décider dans lequel s'intégrer. En fonction de quels paramètres prennent-ils la décision de partir d'un buisson et comment choisissent ils le groupe dans lequel s'intégrer ?

A l'inverse des oiseaux, chez les orthoptères, les différentes fonctions des caractéristiques du chant d'appel n'ont pas été très étudiées. Cette différence pourrait provenir de l'existence d'une diversité plus riche et d'un éventail de sons plus vaste chez les oiseaux. Par exemple, il existe des dialectes dont certaines caractéristiques diffèrent d'une population à l'autre chez les oiseaux. Ces observations correspondent à une « signature » de chaque population dans une même espèce (Aubin, 2002; Catchpole et Slater 2008). Ainsi, chez certaines espèces, il semble que les caractères du chant montrent des variations importantes correspondant à: a) une signature individuelle et/ou condition physique b) une signature de la population et c) une signature générale de l'espèce (Cure *et al.* 2009).

Il serait intéressant d'étudier ces perspectives chez les orthoptères. En particulier lorsque l'on considère la fréquence des signaux, celle-ci montrant une forte variance intra populations. La fréquence est une caractéristique du chant qui a été très peu étudiée chez *E. diurnus*. Bien que j'ai trouvé des différences significatives, je n'ai pas pris en compte la fréquence lors de mes expériences car celle-ci n'appartenait pas aux caractères acoustico-

comportementaux modifiés en continu par les individus. Telle est aussi le cas des différences observées par rapport à l'intervalle-inter-syllabique, où nous avons observé des différences dans la zone **FV** entre Montauban (95 ms) et les deux autres populations proches Cigalère et Vilamòs où nous observons le même intervalle (22 ms). Ce dernier caractère a été étudié chez d'autres orthoptères, chez qui il permet de distinguer leurs con-spécifiques (2000x). Ainsi il serait intéressant d'étudier comment la fréquence du signal et / ou l'intervalle-inter-syllabique sont impliqués dans la signature individuelle, la signature de la population et / ou la signature générale.

Enfin dans tout scénario et, spécifiquement chez les animaux qui forment des agrégations, le bruit de fond est omniprésent. Une ultime étude complémentaire pourrait par conséquent considérer la façon dont ce bruit affecte la perception des mâles et des femelles au sein des regroupements, lors de la rencontre des partenaires. En particulier il serait intéressant d'étudier si l'attention sélective pourrait permettre de ne faire attention qu'aux individus les plus proches et d'ignorer les stimuli plus lointains, par exemple grâce à l'intensité et la clarté de leurs signaux, chez cette espèce. Par ailleurs, il serait également intéressant d'étudier si les femelles sont capables de discriminer les signaux au sein des buissons et si ces capacités de discrimination sont affectées par des stimuli externes en comparaison à des situations de choix binaire simple, telles que celles de mes expériences. Considérant le bruit de fond, les mêmes études de la phonotaxie pourraient être conduites inter population. En effet, selon Spooner et Ritchie (2006) les barrières environnementales en place depuis le pléistocène auraient provoqué des divergences entre les populations **AV** et **FV** en matière de chant masculin et probablement de préférences féminines.

Bibliographie

- Alem, S. & Greenfield, M.D.** 2010. Economics of mate choice at leks: do female waxmoths pay costs for indirect genetic benefits? *Behavioral Ecology*, **21**, 615–625.
- Arlettaz, R., Jones, G. & Racey, P.A.** 2001. Effect of acoustic clutter on prey detection by bats. *Nature*, **414**, 742–745.
- Bee, M.A. & Michéyl, C.** 2008. The cocktail party problem: What is it? How can it be solved? And why should animal behaviorists study it? *Journal of Comparative Psychology*, **122**, 235–251.
- Bee, M.A. & Perrill, S.A.** 1996. Responses to conspecific advertisement calls in the green frog (*Rana clamitans*) and their role in male-male communication. *Behaviour*, **133**, 283–301.
- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L.** 1998. *Principles of Animal Communication*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Brandt, L.S.E. & Greenfield, M.D.** 2004. Condition-dependent traits and the capture of genetic variance in male advertisement song. *Journal of Evolutionary Biology*, **17**, 821–828.
- Brandt, L.S.E., Ludwar, B.C. & Greenfield, M.D.** 2005. Co-occurrence of acceptance thresholds and preference functions in female choice: mate discrimination in the lesser wax moth. *Ethology*, **111**, 609–625.
- Brinklov, S., Kalko, E.K.V. & Surlykke, A.** 2009. Intense echolocation calls from two ‘whispering’ bats, *Artibeus jamaicensis* and *Macrophyllum macrophyllum* (Phyllostomidae). *Journal of Experimental Biology*, **212**, 11–20.
- Burk, T.** 1982. Evolutionary significance of predation on sexually signalling males. *Florida Entomologist*, **65**, 90–104.
- Candolin, U.** 1998. Reproduction under predation risk and the trade-off between current and future reproduction in the threespine stickleback. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **265**, 1171–1175.
- Clutton-Brock, T.H.** 1984. Reproductive effort and terminal investment in iteroparous animals. *American Naturalist*, **123**, 212–229.
- Danchin, E. & Cézilly, F.** 2005. La sélection sexuelle: un autre processus évolutif. In: *Écologie Comportementale* (Ed. by E. Danchin, L.-A. Giraldeau & F. Cézilly), pp. 235–298. Paris: Dunod..
- Dill, L.M., Hedrick, A.V. & Fraser, A.** 1999. Male mating strategies under predation risk: do females call the shots? *Behavioral Ecology*, **10**, 452–461.

- Dukas, R.** 2004. Causes and consequences of limited attention. *Brain, Behavior and Evolution*, **63**, 197–210.
- Dukas, R. & Ratcliffe, J.M.** 2009. *Cognitive Ecology II*. Chicago: University of Chicago Press.
- Farris, H.E., Forrest, T.G. & Hoy, R.R.** 1998. The effect of ultrasound on the attractiveness of acoustic mating signals. *Physiological Entomology*, **23**, 322–328.
- Faure, P. A. & Hoy R. R.** 2000. The sounds of silence: cessation of singing and song pausing are ultrasound-induced acoustic startle behaviors in the katydid *Neoconocephalus ensiger* (Orthoptera; Tettigoniidae). *Journal of Comparative Physiology A*, **186**, 129–142.
- Fuller, R. & Berglund, A.** 1996. Behavioral responses of a sex-role reversed pipefish to a gradient of perceived predation risk. *Behavioral Ecology*, **7**, 69–75.
- Gerhardt, H.C., Roberts, J.D., Bee, M.A. & Schwartz, J.J.** 2000. Call matching in the quacking frog (*Crinia georgiana*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **48**, 243–251.
- Greenfield, M.D.** 1990. Evolution of acoustic communication in the genus *Neoconocephalus*: discontinuous songs, synchrony, and interspecific interactions. In *The Tettigoniidae: Biology, Systematics and Evolution* (Ed. by W.J. Bailey & D.C.F. Rentz), pp. 71–97, Berlin: Springer-Verlag.
- Greenfield, M.D.** 2005. Mechanisms and evolution of communal sexual displays in arthropods and anurans. *Advances in the Study of Behavior*, **35**, 1–62.
- Greenfield, M.D. & Baker, M.** 2003. Bat avoidance in non-aerial insects: the silence response of signaling males in an acoustic moth. *Ethology*, **109**, 427–442.
- Greenfield, M.D. & Coffelt, J.A.** 1983. Reproductive behaviour of the lesser wax moth, *Achroia grisella* (Pyralidae: Galleriinae): signalling, pair formation, male interactions, and mate guarding. *Behaviour*, **84**, 287–315.
- Greenfield, M.D. & Hohendorf, H.** 2009. Independence of sexual and anti-predator perceptual functions in an acoustic moth: implications for the receiver bias mechanism in signal evolution. *Ethology*, **115**, 1137–1149.
- Greenfield, M.D. & Weber, T.** 2000. Evolution of ultrasonic signalling in wax moths: discrimination of ultrasonic mating calls from bat echolocation signals and the exploitation of an anti-predator receiver bias by sexual advertisement. *Ethology Ecology Evolution*, **12**, 259–279.

- Greig, E.I. & Greenfield, M.D. 2004.** Sexual selection and predator avoidance in an acoustic moth: discriminating females take fewer risks. *Behaviour*, **141**, 799–815.
- Gwynne, D.T. 1989.** Does copulation increase the risk of predation? *Trends in Ecology and Evolution*, **4**, 54–56.
- Hamilton, W.D. 1971.** Geometry for the selfish herd. *Journal of Theoretical Biology*, **31**, 295–311.
- Hedrick, A.V. & Dill, L.M. 1993.** Mate choice by female crickets is influenced by predation risk. *Animal Behaviour*, **46**, 193–196.
- Höglund, J. & Alatalo, R.V. 1995.** *Leks*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Hoy, R.R. 1989.** Startle, categorical response, and attention in acoustic behavior of insects. *Annual Review of Neuroscience*, **12**, 355–375.
- Jang, Y. & Greenfield, M.D. 1996.** Ultrasonic communication and sexual selection in wax moths: female choice based on energy and asynchrony of male signals. *Animal Behaviour*, **51**, 1095–1106.
- Jia, F.-Y., Greenfield, M.D. & Collins, R.D. 2001.** Ultrasonic signal competition between male wax moths. *Journal of Insect Behavior*, **14**, 19–33.
- Jones, G., Barabas, A., Elliot, W. & Parsons, S. 2002.** Female greater wax moths reduce sexual display behavior in relation to the potential risk of predation by echolocating bats. *Behavioral Ecology*, **13**, 375–380.
- Karban, R. 1982.** Increased reproductive success at high densities and predator satiation for periodical cicadas. *Ecology*, **63**, 321–328.
- Koga, T., Backwell, P., Jennions, M. & Christy, J. 1998.** Elevated predation risk changes mating behaviour and courtship in a fiddler crab. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **65**, 1385–1390.
- Künike, G. 1930.** Zur biologie der kleinen wachsmotte, *Achroia grisella* (Fabricius). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **16**, 304–356.
- Lack, D. 1968.** *Ecological Adaptations for Breeding in Birds*. London: Methuen.
- Lafaille, M., Bimbard, G. & Greenfield, M.D. 2010.** Risk trading in mating behavior: forgoing anti-predator responses reduces the likelihood of missing terminal mating opportunities. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, in press.
- Magnhagen, C. 1991.** Predation as a cost of reproduction. *Trends in Ecology and Evolution*, **6**, 183–186.
- Miller, L.A. & Surlykke, A. 2001.** How some insects detect and avoid being eaten by bats: tactics and countertactics of prey and predator. *Bioscience*, **51**, 570–581.

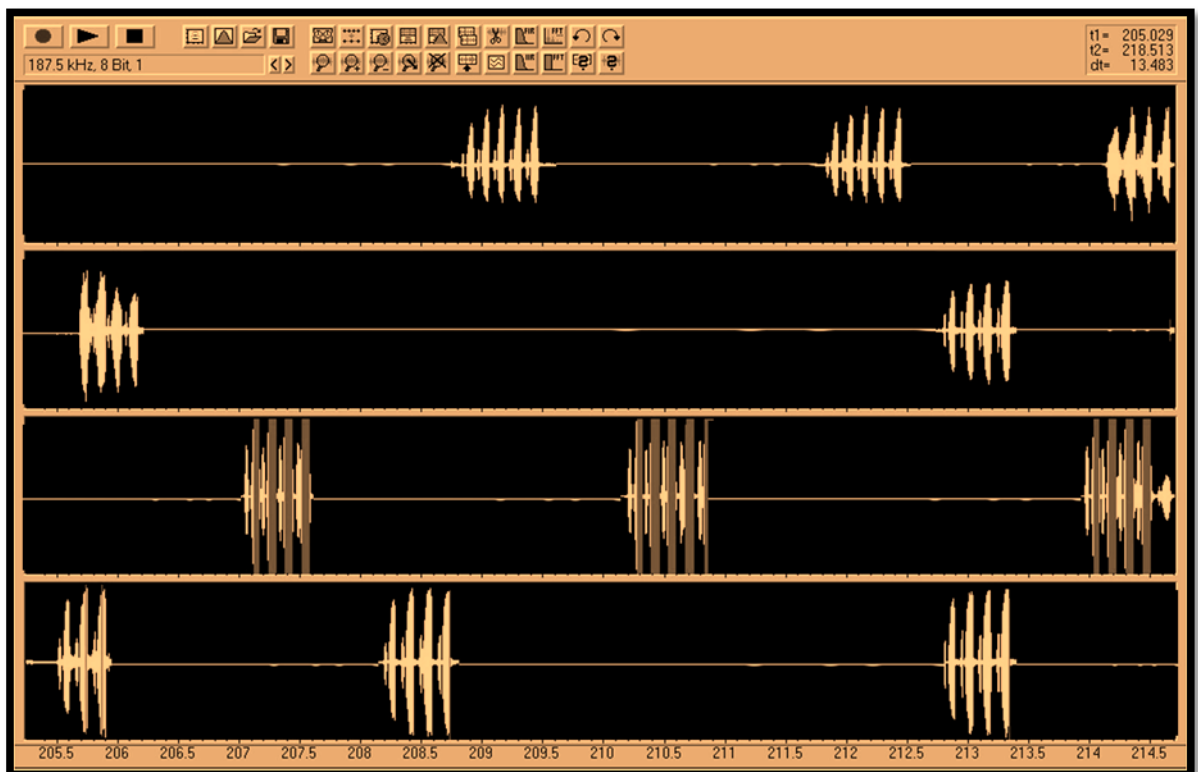
- Neuweiler, G.** 2000. *The Biology of Bats*. Oxford: Oxford University Press.
- Rodriguez, R.L. & Greenfield, M.D.** 2004. Behavioral context regulates dual function of hearing in ultrasonic moths: bat avoidance and pair formation. *Physiological Entomology*, **29**, 159–168.
- Sih, A., Krupa, J. & Travers, S.** 1990. An experimental study on the effects of predation risk and feeding regime on the mating behavior of the water strider. *American Naturalist*, **135**, 284–290.
- Spangler, H.G., Greenfield, M.D. & Takessian, A.** 1984. Ultrasonic mate calling in the lesser wax moth. *Physiological Entomology*, **9**, 87–95.
- Turchin, P. & Kareiva, P.** 1989. Aggregation in *Aphis varians*: an effective strategy for reducing predation risk. *Ecology*, **70**, 1008–1016.
- Walker, T.J.** 1983. Diel patterns of calling in nocturnal Orthoptera. In *Orthopteran Mating Systems: Sexual Competition in a Diverse Group of Insects* (Ed. by D.T. Gwynne & G.K. Morris), pp. 45–72. Boulder, Colorado: Westview Press.
- Waters, D.A. & Jones, G.** 1995. Echolocation call structure and intensity in five species of insectivorous bats. *Journal of Experimental Biology*, **198**, 475–498.
- West-Eberhard, M.J.** 1984. Sexual selection, competitive communication, and species-specific signals in insects. In *Insect Communication* (Ed. by T. Lewis), pp. 283–324, London: Academic Press.
- Zuk, M. & Kolluru, G.** 1998. Exploitation of sexual signals by predators and parasitoids. *Quarterly Review of Biology*, **73**, 415–438.

Annexes

Annexe 1 Exemple du chorus

Chaque canal représente l'émission des chants d'un même individu où nous pouvons observé que le deuxième chant de mâle du canal 2 a été un chant en premier par rapport au troisième de canal.

N'oubliez pas d'effacer ce texte quand vous n'en aurez plus besoin.





Odette BRUNEL
DE LA COMUNICATION ACOUSTIQUE
AU SEIN DU GROUPE : CONTRAINTES
ET MÉCANISMES



Résumé

Chez les insectes où les mâles chantent en chœurs, l'interférence locale de signaux impose des contraintes majeures à des femelles qui doivent évaluer les mâles individuellement. Les mâles subissent des difficultés pour évaluer la compétitivité de leurs voisins et pour montrer clairement aux femelles les caractéristiques de leurs propres chants. J'ai analysé différents aspects de cette problématique chez deux espèces acoustiques : chez la sauterelle ephippiger et une pyrale nocturne qui émettent leurs signaux au sein de regroupements. Nos expériences ont mis en évidence certains mécanismes comportementaux permettant aux femelles de localiser les meuliers mâles et d'autres permettant aux mâles de se communiquer efficacement et percevoir leur environnement acoustique.

Mot-clés : sélection sexuelle, signaux acoustiques, mécanismes comportementaux, pyrale nocturne, sauterelle, ephippiger.

Abstract

In acoustic insects where males sing in choruses, local signal interference may present major difficulties for females evaluating and individual males. Males too may be prevented from assessing the competitiveness of their neighbors as well as from advertising the characteristics of their own signals to females in a clear manner. Moreover, the background noise from local signals may prevent both sexes from perceiving other sounds in the environment, e.g. predator cues. I studied these problems at several levels in two acoustic insect species: in which males broadcast their advertisement songs while remaining in dense clusters. The experiments revealed behavioral mechanisms with which females can identify favored males and others with which males can communicate effectively.

Key words: sexual selection, acoustic signals, behavioral mechanisms, nocturnal moth, bushcricket, ephippiger