



Biologie et pathologie animales / Animal biology and pathology

Capacité de reproduction des femelles *Eupelmus vuilleti* (Eupelmidae), inséminées par des mâles développés en hyperparasitoïdes de *Dinarmus basalis* (Pteromalidae)

Danielle Rojas-Rousse*, Christophe Bressac, Christian Thibeau, Robert Kalmès, Éric Darrouzet, Claude Chevrier

UMR CNRS 6035, Institut de recherche sur la biologie de l'insecte, faculté des sciences et techniques, parc Grandmont, av. Monge, 37200 Tours, France

Reçu le 8 novembre 2004 ; accepté après révision le 21 juin 2005

Disponible sur Internet le 3 août 2005

Présenté par Claude Combes

Résumé

Eupelmus vuilleti est un ectoparasitoïde primaire et solitaire des stades larvaires de Bruchidae (*Callosobruchus maculatus*, *Bruchidius atrolineatus*). En présence d'une forte compétition pour les hôtes sains, *E. vuilleti* a un comportement ovicide ou larvicide vis-à-vis du Pteromalidae *D. basalis* en développement (cleptoparasitisme) ; l'expression extrême du cleptoparasitisme conduit les femelles de *E. vuilleti* à hyperparasiter le dernier stade larvaire (stade L5) de *D. basalis*. Dans ce travail, on a comparé la variabilité du succès reproducteur des mâles développés en hyperparasitisme à celle des mâles développés sur des hôtes primaires. Le succès reproducteur de ces mâles de 24 h d'âge, analysé en fonction de leur poids, est mesuré par la quantité de spermatozoïdes stockés dans les vésicules séminales, et par la qualité de l'insémination ; cette dernière est définie comme la quantité de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque des femelles après un premier accouplement, et par les effectifs de filles engendrées. Les adultes de *E. vuilleti* dont les larves se sont développées en hyperparasitoïdes sont de taille inférieure à ceux développés sur hôtes primaires ; toutefois, ils possèdent toutes les potentialités requises pour réinvestir une population d'hôtes primaires quand la compétition pour les hôtes devient moins intense. **Pour citer cet article : D. Rojas-Rousse et al., C. R. Biologies 328 (2005).**

© 2005 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Reproductive capacity of females *Eupelmus vuilleti* (Eupelmidae) inseminated by hyperparasitoid males developed upon the primary parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae). *Eupelmus vuilleti* is a primary and solitary ectoparasitoid of the larval stages of Bruchids (*Callosobruchus maculatus*, *Bruchidius atrolineatus*). In a context of intense competition for

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : danielle.rousse@univ-tours.fr (D. Rojas-Rousse).

healthy hosts, *E. vuilleti* displays ovicide and larvicide behaviours towards the Pteromalid *D. basalis* during its development (kleptoparasitism), and in an extreme expression of kleptoparasitism the *E. vuilleti* females hyperparasitize the final larval stage (L5 stage) of *D. basalis*. In this study, we compared the variability of reproductive success in males that had developed in the context of hyperparasitism to that in males that had developed on primary hosts. The adaptation capacity of the males when 24 h old was analysed in terms of their weight, of the quantity of spermatozooids stored in the seminal vesicles, of the quality of insemination determined from the quantity of spermatozooids stored in the spermatheca of the females after the first mating, and of the number of daughters produced. Adults of *E. vuilleti*, the larvae of which had developed as hyperparasitoids, are smaller than those that have developed on primary hosts, but they keep all the abilities required to parasitize a population of primary hosts once the competitive pressure is reduced. **To cite this article:** D. Rojas-Rousse et al., C. R. Biologies 328 (2005).

© 2005 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots-clés : Parasitisme primaire ; Parasitisme secondaire ; Hyperparasitisme ; Vésicules séminales ; Spermatozoïdes ; Spermatèque

Keywords : Primary parasitism; Secondary parasitism; Hyperparasitism; Seminal vesicles; Spermatozooids; Spermatheca

Abridged English version

The Eupelmid *Eupelmus vuilleti* occurs in the Sahel region of Africa, in a parasitic community that includes two other parasitoids (another Eupelmid *E. orientalis*, and a Pteromalid *Dinarmus basalis*). *Eupelmus vuilleti* is a primary, solitary ectoparasitoid of the larval stages of the Bruchids *Callosobruchus maculatus* and *Bruchidius atrolineatus*. In a context of intense competition for healthy hosts, *E. vuilleti* displays ovicide and larvicide behaviours towards the Pteromalid *D. basalis* during its development (kleptoparasitism), and in an extreme expression of kleptoparasitism, the *E. vuilleti* females oviposit within the final larval stage (L5 stage) of *D. basalis*.

In this study, the adaptation capacity of the males developed on secondary hosts when 24 h old was determined from the quantity of spermatozooids stored in the seminal vesicles and the quality of insemination determined by the quantity of spermatozooids stored in the spermatheca of the females after a single mating, and latter was estimated by the number of daughters produced. However after having developed as hyperparasitoids, the numbers of daughters which reveals the ability of the males to inseminate the females, provides a way of determining some aspects of the reproductive success of females via the migration of the spermatozooids to the reservoir of the spermatheca, and by the mobilization of these spermatozooids at the moment of the fertilization of an oocyte.

In parasitoids, in which the reproductive system involves arrhenotoky parthenogenesis, the selection of hosts and the sex of the descendants are often corre-

lated to the size of the host involved, taken to be an indicator of its quality. However, after developing in the context of hyperparasitism, the size of the adults *E. vuilleti* is miniaturized and measured by the fresh weight when they emerge; this size is on average significantly lower than that of adult males and females developed on the primary host *C. maculatus*.

The miniature male *E. vuilleti* that hatch out from a secondary host retained the ability to mate, particularly as the gregarious nature of the hosts promoted mating at the emergence site.

The ability of the females to produce daughters was also assessed from the size of the stock of spermatozooids in the reservoir in their spermatheca. However, despite the significant differences between the production of spermatozooids in males depending on their origin (in the males that had developed in a context of hyperparasitism, the counts ranged from 600 to 3000 spermatozooids, whereas the counts in males that had developed as primary parasitism ranged from 1800 to 4200 spermatozooids), it was noteworthy that after the first mating, the potential numbers of spermatozooids that could be mobilized by the females to produce daughters were not significantly different whatever the origin of the females: on average 123 ± 28 spermatozooids were stored by the hyperparasitoid females, and 150 ± 22 by the primary females.

The differences observed between the copulation times of the males depending on their origin did not have any repercussions on the production of daughters, since, regardless of their origin, as many daughters were produced during the first 12 days of reproductive activity of the inseminated females (40.23 ± 5.3

daughters for the couples developed on secondary hosts). The production of daughters by these couples was significantly different from that of couples with higher bodyweight developed on primary hosts (61.75 ± 0.52 daughters).

To conclude, the expression by *E. vuilleti* of hyperparasitism classified as optional leads to the emergence of adult males that are smaller than those that had hatched out of primary hosts, but they have all the capabilities required to allow the parasitism of a population of primary hosts once the competitive pressure is reduced.

1. Introduction

En Afrique occidentale, une communauté hôtes–parasitoïdes cohabite dans un habitat semi-clos, de type grenier utilisé pour le stockage des graines de la légumineuse *Vigna unguiculata* contaminées dans les champs de culture par les Bruchidae *Callosobruchus maculatus* et *Bruchidius atrolineatus* [1]. Le stockage des graines favorise la prolifération des Bruchidae et, au bout de huit mois, la totalité du stock peut être contaminée [1]. Ces deux Bruchidae sont attaquées par trois hyménoptères parasitoïdes larvo-nymphaux, *Dinarmus basalis* (Pteromalidae), *Eupelmus vuilleti* et *E. orientalis* (Eupelmidae) [2,3]. La prolifération des Bruchidae assure aux parasitoïdes une grande disponibilité en hôtes potentiels, mais le chevauchement des générations, dû à la grande diversité des stades larvaires susceptibles d'être parasités, conduit à une variabilité dans la qualité de ces hôtes, variabilité augmentée par la présence d'hôtes parasités [2].

Dans un tel environnement, la compétition pour l'hôte conduit les femelles *E. vuilleti* à développer un comportement de cleptoparasitisme qui consiste à tuer les œufs, les larves néonates et celles du premier stade larvaire du pteromalidae concurrent *D. basalis* [4,5]. Ce comportement permet à *E. vuilleti* de détourner au profit de sa descendance la nourriture représentée par l'hôte phytophage [4–10]. Chez les femelles *E. vuilleti* et *E. orientalis*, le cleptoparasitisme évolue jusqu'à l'hyperparasitisme du dernier stade larvaire de parasites en cours de développement [9,10]. Cet hyperparasitisme, qualifié de facultatif chez les Eupelmidae, s'exerce sur le cinquième stade larvaire du Pteromalidae *Dinarmus basalis*, trois fois plus léger que celui de

leur hôte primaire *C. maculatus*. Cet hôte secondaire représente une ressource alimentaire quantitativement limitée en comparaison de celle offerte par l'hôte primaire *C. maculatus* [6].

Le passage du parasitisme primaire vers l'hyperparasitisme facultatif, avec le cleptoparasitisme comme étape intermédiaire, s'est produit sans qu'il y ait la nécessité d'une adaptation spéciale pour pondre et se nourrir aux dépens d'un hôte secondaire ; il induit un niveau trophique supplémentaire, induisant la formation d'adultes miniaturisés du fait de la baisse pondérale de la quantité de nourriture disponible [6,7,9–11]. En effet, après un développement en hyperparasitisme, tous les paramètres pondéraux entrant dans le calcul des rendements d'ingestion et d'assimilation sont inférieurs à ceux mesurés chez les femelles et mâles Eupelmidae développés en parasitisme primaire [6,12]. Cependant, comme le rendement de conversion des éléments nutritifs assimilés est indépendant du mode de développement de la larve, la conversion en énergie utilisable par l'adulte se fait dans les mêmes rapports dans les deux voies possibles du développement larvaire primaire ou secondaire [6]. Les potentialités énergétiques des mâles et femelles *E. vuilleti* développés en hyperparasitisme permettent d'évaluer le coût de l'investissement de chaque parent dans la procréation d'une nouvelle génération de parasitoïdes adultes, qui accéderont à une population d'hôtes primaires. L'évaluation du coût cet investissement est possible du fait de la corrélation positive entre la quantité de nourriture ingérée par la larve parasitoïde au cours du développement et le poids de l'adulte à l'émergence [13–15].

Dans ce travail, la capacité de reproduction des mâles hyperparasites est mesurée par la quantité de spermatozoïdes stockés dans les vésicules séminales, par la qualité de l'insémination définie par le nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la femelle après un premier accouplement, et par les effectifs de filles que ces femelles inséminées engendreront. L'analyse des effectifs de filles, révélant la capacité des mâles à inséminer les femelles, permet d'accéder au succès reproducteur des femelles développées en hyperparasitisme par le biais de la migration des spermatozoïdes vers le réservoir de la spermathèque et par les effectifs de filles engendrées [16, 17].

2. Matériels et méthodes

2.1. Insectes

Originaires du Burkina Faso, le Bruchidae *C. maculatus* et son cortège parasitaire *E. vuilleti* et *D. basalis*, sont élevés dans des enceintes où toutes les conditions abiotiques sont contrôlées [3,18]. Les élevages de masse des parasitoïdes ont été initiés à partir d'adultes émergés de graines de *Vigna unguiculata* contaminées par *C. maculatus* et collectées dans la région de Niamey (Niger).

Chez *D. basalis*, le développement larvaire passe par cinq stades, suivis d'un état prénymphe puis d'une nymphe [19]. Dans nos conditions expérimentales, le dernier stade larvaire (L5) s'observe en moyenne 10 jours après la ponte sur *C. maculatus*, tandis que le stade nymphal est atteint trois jours plus tard [19]. À cette étape du développement, l'hôte phytophage étant réduit à un reliquat, la larve parasite (au stade L5 ou nymphal) représente une source alimentaire de remplacement qui peut être à son tour parasitée. Tous les parasitoïdes adultes *E. vuilleti* utilisés dans les expériences sont issus de larves développées en hyperparasitoïdes sur des larves L5 du pteromalidae *D. basalis*.

2.2. Étendue de la variabilité de la taille des hyperparasitoïdes

Pour étudier la variabilité observée dans la taille des hyperparasitoïdes mâles ou femelles, cette dernière a été quantifiée par le poids frais (en milligrammes) 24 h après l'émergence des adultes, et par la largeur de la tête (prise entre les bords externes des yeux à l'aide d'un système automatique de lecture). L'intensité de la relation entre le poids et la taille de la tête (mesurée par le coefficient de corrélation) a permis par la suite de regrouper les hyperparasitoïdes mâles sur le critère « largeur de la tête » pour étudier leur production en spermatozoïdes (l'accès aux vésicules séminales nécessitant leur sacrifice).

2.3. Production des spermatozoïdes chez les mâles

La production des spermatozoïdes est analysée chez les mâles développés en hyperparasitoïdes sur les larves L5 du Pteromalidae *D. basalis*. L'influence

du développement sur la spermatogenèse est évaluée par la quantité de spermatozoïdes produite puis stockée dans les vésicules séminales des mâles vierges de 24 h d'âge [20,21]. Pour ce faire, l'abdomen est disséqué dans une goutte d'une solution saline de Beadle (128,3 mM NaCl, 4,7 mM KCl, 2,3 mM CaCl₂), et les deux vésicules séminales sont transférées dans 100 µl de la solution saline, puis éclatées à l'aide d'un potter. Par agitation douce, les spermatozoïdes sont mis en suspension. Deux gouttes de 3 µl de la solution homogénéisée sont déposées sur une lame dégraissée. Après fixation à l'alcool et coloration au DAPI (agent intercalant de l'ADN), les spermatozoïdes présents dans chaque goutte ont été comptés à l'aide d'un microscope à fluorescence [20]. Le nombre de spermatozoïdes stockés dans les deux vésicules séminales correspond à la moyenne de trois comptages, multiplié par le facteur de dilution. La production en spermatozoïdes des mâles développés sur un hôte secondaire est comparée à celle des mâles développés sur un hôte primaire.

2.4. Spermatozoïdes stockés dans la spermathèque des femelles

Les femelles vierges (âgées de 2 h) sont accouplées par des mâles de 24 h d'âge [22]. La spermathèque des femelles est prélevée 24 h après l'accouplement et la totalité de son contenu est étalé sur une lame de microscope dans 3 µl d'une solution saline de Beadle [20, 21]. Les spermatozoïdes sont comptés successivement deux fois et la quantité retenue est la moyenne des deux comptages.

Deux expériences indépendantes sont menées en parallèle. Dans une première expérience, on dénombre les spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de femelles primaires ($N = 56$), accouplées par des mâles hyperparasites. Dans une deuxième situation expérimentale, le comptage concerne les spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de femelles hyperparasites ($N = 32$) accouplées par des mâles primaires.

2.5. Production en filles nées des croisements impliquant des adultes développés sur un hôte secondaire

Le succès reproducteur des mâles développés sur un hôte secondaire est analysé par la capacité des fe-

melles (développées en parasitisme primaire ou en hyperparasitisme) à produire des filles. Cette production en filles est comparée à celle de couples dont les deux partenaires se sont développés sur des hôtes primaires. Dans toutes les situations, les accouplements se font entre des femelles vierges âgées de 2 h et des mâles de 24 h d'âge [20–22].

L'activité reproductrice est mesurée pendant les 12 premiers jours de vie des femelles, qui englobe la période d'activité reproductrice maximale [3,19,20]. L'expérience débute 24 h après l'émergence des femelles, et l'activité reproductrice individuelle des femelles est suivie en décomptant les filles engendrées. Toutes les 24 h, on présente aux femelles 10 graines de *Vigna unguiculata*, abritant chacune deux hôtes de *C. maculatus* au stade L4-prénympe de leur développement [23–25]. Ce choix du stade larvaire de l'hôte est déterminé par le fait que les femelles *E. vuilleti* modulent le sexe de leurs descendants en fonction de la taille de l'hôte : un maximum d'œufs fécondés (filles) étant pondus sur les hôtes de plus grande taille [23–25].

2.6. Traitement statistique

Les variables mesurées selon le type de développement subi par les parents sont analysées par l'ANOVA d'XLSTAT-Pro 6.1 pour Windows, avec un risque d'erreur de 5%. Lorsque les variances sont égales, les valeurs moyennes ont été comparées par le test de Student (XLSTAT-Pro 6.1 pour Windows).

La régression linéaire multiple d'XLSTAT-Pro 6.1 pour Windows a été utilisée pour tester les relations la largeur de la tête et du poids frais des adultes mâles développés sur des hôtes secondaires.

3. Résultats

3.1. Taille des adultes développés sur un hôte secondaire

Les distributions du poids frais des parasitoïdes mâles et femelles permettent de différencier les échantillons de population en fonction du développement primaire ou secondaire (Figs. 1 et 2). Les mâles développés en hyperparasitisme ($N = 53$) ont des poids étalés de 0,155 à 1,10 mg, et ceux des mâles

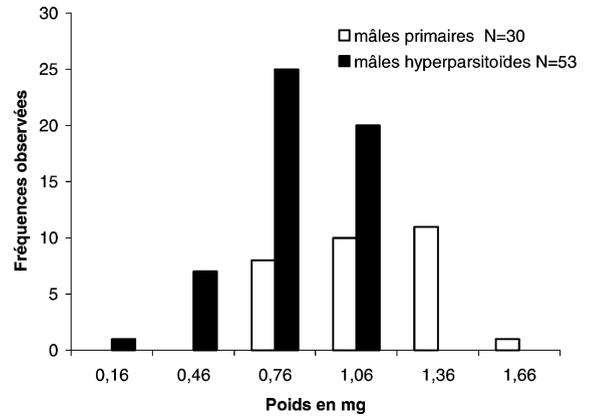


Fig. 1. Répartition du poids frais des mâles primaires et hyperparasites de *Eupelmus vuilleti*. Mesurés 24 h après la naissance, les poids se répartissent de manière homogène (F calculé de Fisher : 1,142, pour $\alpha = 0,05$, valeur critique du $F = 1,788$), et la différence observée entre les poids moyens est significative (moyenne \pm intervalle de confiance de la moyenne : mâles hyperparasites $0,68 \pm 0,05$ mg ; mâles primaires $0,965 \pm 0,10$ mg ; test de Student $t = 5,226$ au seuil de signification $\alpha = 0,05$).

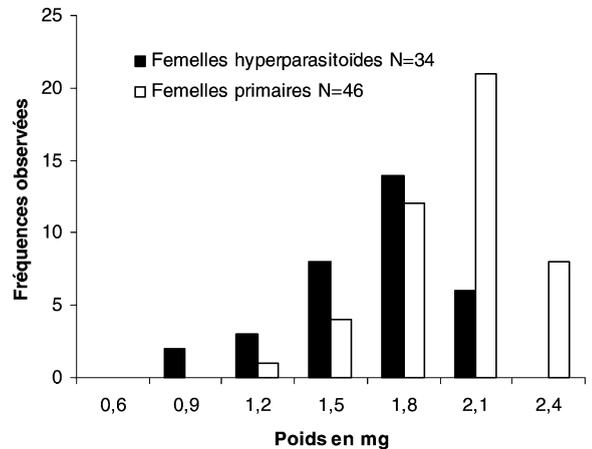


Fig. 2. Répartition du poids frais des femelles primaires et hyperparasites de *Eupelmus vuilleti*. La différence observée entre les valeurs moyennes des poids est significative (ANOVA : $F_{1,79} = 15,61$; $P = 0,0002$; moyenne \pm intervalle de confiance de la moyenne : femelles primaires, $1,90 \pm 0,30$ mg, femelles hyperparasites $1,60 \pm 0,10$ mg).

primaires ($N = 30$) se distribuent entre 0,650 et 1,500 mg (Fig. 1). La différence observée entre les poids moyens des deux catégories de mâles est significative : mâles hyperparasites $0,68 \pm 0,05$ mg ; mâles primaires $0,965 \pm 0,10$ mg (Fig. 1). De même, les poids moyens des femelles primaires ou hy-

perparasites sont significativement différents : femelles primaires, $1,90 \pm 0,30$ mg ; femelles hyperparasites, $1,60 \pm 0,10$ mg (Fig. 2). Pour un type de développement (primaire ou hyperparasite), les poids moyens des femelles sont significativement différents de ceux des mâles (ANOVA : développement primaire : $F_{1,75} = 221,5$ et $P = 0,0001$; développement secondaire : $F_{1,86} = 159,45$ et $P = 0,0001$).

L'étude de la relation entre le poids et la plus grande largeur de la tête (analysée chez 24 mâles et 17 femelles hyperparasites) a mis en évidence une forte corrélation positive entre ces deux variables : chez les mâles, $r = 0,874$; $P < 0,05$; chez les femelles, $r = 0,928$; $P < 0,05$. Cette corrélation positive permet de répartir les mesures de la largeur de la tête de 53 mâles hyperparasites entre trois classes de taille, définies comme petite (0,5–0,6 mm), moyenne (0,6–0,8 mm) ou grande (0,8–1 mm), les valeurs moyennes de ces trois classes étant significativement différentes (ANOVA : $F_{2,52} = 146,34$; $P = 0,0001$; moyenne \pm écart type de la moyenne : petite largeur $N = 7$: $0,56 \pm 0,02$ mm ; largeur moyenne $N = 21$: $0,71 \pm 0,05$ mm ; grande largeur $N = 25$: $0,82 \pm 0,03$ mm).

3.2. Production de spermatozoïdes chez les mâles vierges de 24 h d'âge

Chez les mâles, primaires ou hyperparasites de 24 h d'âge, la distribution des spermatozoïdes stockés dans une vésicule séminale s'étale de 600 à 4200 spermatozoïdes (Fig. 3). La présence de deux classes modales sépare deux échantillons : la classe 1200 spermatozoïdes caractérise les mâles hyperparasites ($N = 32$), et celle à 3000 spermatozoïdes les mâles primaires ($N = 30$) (Fig. 3). Les productions moyennes en spermatozoïdes des mâles développés sur un hôte primaire ou secondaire diffèrent significativement : mâles hyperparasites 1300 ± 240 spermatozoïdes ; mâles primaires 2493 ± 284 spermatozoïdes (Fig. 3).

Un échantillon de population de 32 mâles hyperparasites, comprenant des mâles de trois tailles différentes (séparés par la largeur de la tête : petite, moyenne ou grande), a permis de comparer les productions de spermatozoïdes de ces trois classes de mâles. Ces mâles, différenciés par leur largeur de tête, ne produisent pas les mêmes quantités de spermatozoïdes (ANOVA : $N = 32$; $F_{2,31} = 5,38$; $P = 0,01$), et le classement des productions moyennes en sper-

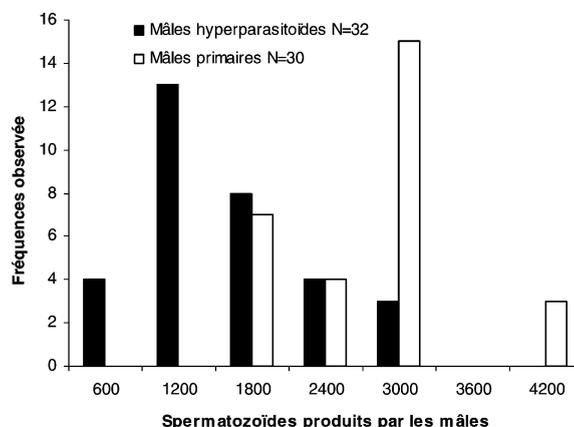


Fig. 3. Répartition des spermatozoïdes produits par les mâles primaires et hyperparasites et stockés dans les vésicules séminales 24 h après l'émergence. Les productions étant homogènes entre les deux échantillons de populations (valeur observée du F de Fisher : 1,292 pour $\alpha = 0,05$, valeur critique du $F = 1,835$), la différence observée entre les effectifs en moyenne stockés est significative (moyenne \pm intervalle de confiance de la moyenne : mâles hyperparasites, 1300 ± 240 spermatozoïdes ; mâles primaires, 2493 ± 284 spermatozoïdes ; test de Student $t = 6,30$ au seuil de signification $\alpha = 0,05$).

matozoïdes sépare les productions des mâles de petites et moyennes tailles (moyenne \pm intervalle de confiance de la moyenne : respectivement, $738,10 \pm 350$ et 1319 ± 282 spermatozoïdes), de celles des moyennes et grandes tailles (respectivement, 1319 ± 282 et 1812 ± 555 spermatozoïdes).

3.3. Stockage des spermatozoïdes dans le réservoir de la spermathèque

De 50 à 450 spermatozoïdes peuvent être stockés dans le réservoir de la spermathèque de femelles primaires ou hyperparasites 24 h après un accouplement (Fig. 4). La distribution des effectifs de spermatozoïdes dénombrés dans les réservoirs des femelles ($N = 56$ femelles primaires ; $N = 32$ femelles hyperparasites) ne sépare pas les femelles en fonction du type de développement, puisque la classe modale de chaque échantillon de population se situe à 150 spermatozoïdes (Fig. 4). Les valeurs moyennes du nombre de spermatozoïdes par réservoir ne diffèrent pas significativement : femelles hyperparasites 123 ± 28 ; femelles primaires 150 ± 22 (Fig. 4).

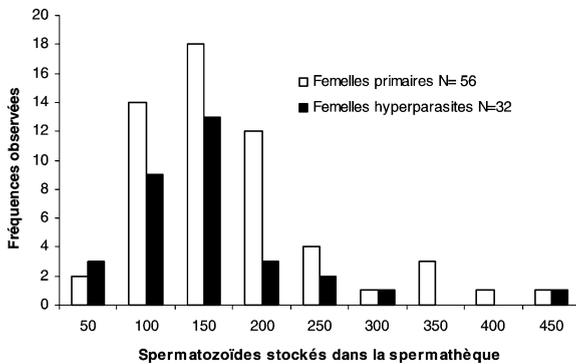


Fig. 4. Répartition, 24 h après l'accouplement, des spermatozoïdes stockés dans le réservoir de la spermatheque des femelles primaires et hyperparasites. Les variances calculées des stocks de spermatozoïdes chez les types de femelles étant égales (valeur observée du F de Fisher : 1,119 pour $\alpha = 0,05$, valeur critique du $F = 1,737$), la différence n'est pas significative entre les effectifs moyens de spermatozoïdes stockés par réservoir (moyenne \pm intervalle de confiance de la moyenne : femelles hyperparasites 123 ± 28 spermatozoïdes ; femelles primaires 150 ± 22 spermatozoïdes ; test de Student $t = 6,30$ au seuil de signification $\alpha = 0,05$).

3.4. Filles engendrées

Dans notre modèle expérimental, il y a une différence significative au niveau de la moyenne des filles engendrées entre les couples mâle hyperparasite \times femelle primaire ($N = 30$ couples) couples hyperparasites ($N = 22$ couples), et couples primaires ($N = 28$ couples) (ANOVA : $F_{2,79} = 10,334$; $P = 0,0001$; 21,20 % de la variabilité observée en filles s'expliquent par le type de croisements). Le classement des moyennes sépare significativement deux groupes : celui des parents développés en parasitisme primaire (moyenne \pm intervalle de confiance de la moyenne : $61,75 \pm 0,52$ filles pour $N = 28$ couples) de celui des couples dont au moins un partenaire a eu un développement sur un hôte secondaire. Quand les deux partenaires sont hyperparasites ou si seulement le père l'est, la production en filles n'est pas significativement différenciable : $40,23 \pm 5,3$ filles en moyenne pour $N = 22$ couples hyperparasites, et $48,87 \pm 7,4$ filles chez $N = 30$ couples où seul le père est hyperparasite.

4. Discussion

Chez les parasitoïdes où le système de reproduction est une parthénogenèse arrhénotoque, la sélection

des hôtes et la distribution du sexe des descendants sont souvent corrélées à la taille de l'hôte considérée comme un indicateur de sa qualité [26,27]. En particulier, chez les parasitoïdes idiobiontes et solitaires qui ne consomment qu'un seul hôte, la sélection a favorisé l'évolution vers l'utilisation optimale des ressources alimentaires limitées à un seul hôte. Ces ressources fixées par la taille de l'hôte influent sur la taille des parasitoïdes en développement, de telle sorte que les tests qualitatifs concluent à une corrélation positive entre la taille des hôtes, la survie et le succès reproducteur des adultes émergents [25–31]. L'histoire des traits de vie des femelles *E. vuilleti* et *E. orientalis* développées sur leur hôte primaire *C. maculatus* a été analysée par l'étendue de la période de reproduction, de la production journalière en œufs et des descendants [3,23,25]. Quant au succès reproducteur des mâles primaires *E. orientalis*, il a été évalué par leur disposition à inséminer avec succès les femelles et la capacité de ces dernières à engendrer des filles [20].

Ces liens entre taille des adultes et qualité des hôtes existent aussi chez les espèces capables de parasiter des parasitoïdes en développement en cas de forte compétition interspécifique pour l'appropriation des hôtes primaires, ce qui leur permet d'accéder à des ressources alimentaires complémentaires [5,11,12]. Dans un habitat de l'hôte relativement clos (grenier de stockage des graines de Phaseolinae), quand le niveau trophique de l'hôte primaire (stades larvaires des Bruchidae) est saturé par les parasitoïdes primaires (*E. vuilleti*, *E. orientalis*, *D. basalis*), les *E. vuilleti* femelles expriment une plasticité comportementale très agressive, consistant à hyperparasiter le dernier stade larvaire du Pteromalidae *D. basalis* [4,5,9].

Ce choix comportemental d'hyperparasiter représente un compromis évolutif vers une reproduction future sur des hôtes primaires. En effet, après un développement sur un hôte secondaire, les adultes *E. vuilleti* ont une taille miniaturisée, quantifiée par un poids frais à l'émergence significativement plus bas que celui des mâles et femelles développés sur l'hôte primaire *C. maculatus*. Ces adultes miniatures représentent un échantillon de population de parasitoïdes dont le succès reproducteur peut être évalué par l'issue de la compétition pour l'accouplement entre mâles de tailles différentes, par le nombre de femelles qu'ils sont aptes à inséminer au long de leur vie (lié à la longévité des mâles), par les effectifs de filles engendrées. Selon les

espèces, l'étude de la capacité des mâles à s'accoupler selon la taille révèle une hétérogénéité de réponses. Par exemple, au cours de la parade pré-copulatoire, les petits mâles qui produiraient moins de stimulations auraient moins de succès dans le maintien d'une position dominatrice [32]. Au contraire, ceux de *Pimpla nipponica* (Ichneumonidae), en présence d'une gamme de tailles de femelles, seraient avantagés à l'accouplement, dans le cas d'une compétition mâle-mâle, tandis que chez l'Encyrtidae *Anagyrus kamali*, les petits ou grands mâles auraient autant de succès avec des femelles de taille moyenne [33,34]. Chez l'Eupelmidae *E. vuilleti*, les mâles miniatures ont gardé la capacité à s'accoupler, d'autant plus que le gréganisme des hôtes favorise les accouplements sur le lieu d'émergence [6,35]. Bien que trois fois plus légers que les femelles primaires, les mâles miniatures les inséminent, et la copulation dure en moyenne $11,17 \pm 1,8$ s, alors qu'elle atteint $19 \pm 3,7$ s chez les couples primaires (observations personnelles d'Éric Darrouzet : ce laps de temps ne comprend pas les séquences pré- et post-copulatoires). Cependant, la taille ne peut pas être considérée comme le facteur-clé du pouvoir reproducteur des mâles hyperparasites, car les petits mâles de *Lariophagus distinguendus* engendrent autant de filles que ceux de plus grande taille [36]. Si la valeur adaptative des mâles désigne selon la définition classique « *the expression of an individual's success of passing on its genes to future generations* » (R. Dawkins [37]), c'est l'investissement des mâles dans les futures générations mesuré par les effectifs de filles engendrées qu'il faut connaître. Or, cet investissement des mâles dépend de leur capacité à produire des spermatozoïdes, puis de la quantité de spermatozoïdes transmise aux femelles à la copulation et en dernier lieu de la quantité de spermatozoïdes stockée dans la spermathèque des femelles. Par exemple, un mâle *E. orientalis* primaire, vierge et de 24 h d'âge, a en réserve approximativement 5500 spermatozoïdes en moyenne dans une vésicule séminale, en transfère au cours d'un accouplement 1650 en moyenne, mais seulement 21 % de la quantité transférée est stockée dans la spermathèque d'une femelle de 24 h d'âge, qui n'en utilisera que les trois cinquièmes tout au long de sa vie [20].

Chez les mâles hyperparasites, la production en spermatozoïdes est en moyenne de 1300 ± 240 spermatozoïdes, alors qu'elle atteint 2493 ± 284 spermatozoïdes chez les primaires. Dans nos conditions expé-

riméntales, 72,30 % de la variabilité de cette production est liée à la qualité du développement des mâles, du fait des paramètres pondéraux plus élevés chez les parasitoïdes primaires. Ces mâles d'Eupelmidae, catalogués comme « mâles synspermatogéniques », produisent des spermatozoïdes tout au long de leur vie, et l'énergie nécessaire à cette production (liée aux protéines et aux amino acides) provient de la prise de nourriture de nectar ou/et pollen, mais aussi, de façon opportuniste, de l'hémolymphe de l'hôte, qui sourd par les blessures occasionnées par les piqûres des femelles au cours de la ponte [38,39]. Il est probable que ces ressources alimentaires à la disposition des adultes permettent le maintien ou/et l'augmentation des potentialités énergétiques des mâles miniaturisés et qu'elles participent à augmenter leurs chances de survie et leur pouvoir reproducteur. Toutefois, ces hypothèses restent à démontrer chez les mâles, alors que chez les femelles primaires les nutriments acquis au cours du nourrissage sur l'hôte sont stockés et utilisés graduellement pour la production d'œufs tout au long de leur vie [40].

La capacité des couples à engendrer des filles, évaluée par le stock de spermatozoïdes dans le réservoir de la spermathèque, ne varie pas de manière significative selon le développement larvaire de chaque partenaire (stock moyen des femelles primaires : 150 ± 22 spermatozoïdes ; stock moyen des femelles hyperparasites 123 ± 28 spermatozoïdes). Après un premier accouplement, il est remarquable de constater que le potentiel en spermatozoïdes mobilisables par les femelles pour engendrer des filles est équivalent, malgré la différence d'origine des femelles (primaire ou hyperparasite), et les quantités différentes de spermatozoïdes stockés dans les vésicules séminales des mâles primaires ou hyperparasites. Le stock en spermatozoïdes des femelles pourrait résulter des mécanismes régulateurs des comportements post-copulatoire et/ou de la migration des spermatozoïdes vers le réservoir après l'insémination.

Bien qu'ayant un potentiel équivalent de spermatozoïdes en réserve, les femelles primaires ou hyperparasites n'engendrent pas autant de filles. Sur les 12 premiers jours d'activité reproductrice, les couples hyperparasites engendrent en moyenne $40,23 \pm 5,3$ filles, alors qu'un couple de parasites primaires a en moyenne $61,75 \pm 0,52$ filles. Dans les deux voies du développement larvaire, la corrélation positive entre le

poids du corps de l'adulte et la nourriture ingérée par les larves fait qu'il est possible de comparer le coût de l'investissement de chaque parent dans la reproduction [6,13,14]. Les réserves énergétiques des femelles primaires *E. vuilleti* acquises au cours du développement larvaire leur permettent de pondre en moyenne $7,7 \pm 0,5$ œufs par jour, alors que les femelles hyperparasites n'en pondent que $3,26 \pm 0,4$ ([41], observations personnelles D. Rousse). Ces écarts dans la production en filles peuvent ne pas être totalement dus au seul poids corporel des adultes impliqués dans les croisements, car des femelles primaires inséminées par des mâles hyperparasites n'engendrent que $48,87 \pm 7,4$ filles. En effet, si tel était le cas, les réserves énergétiques des femelles primaires, accumulées au cours du développement primaire pour couvrir leurs besoins métaboliques, devraient leur permettre d'engendrer autant de filles et ce, quelle que soit l'origine de leur partenaire. Or, comme cette hypothèse n'est pas vérifiée par l'expérimentation, les différences de production de filles doivent être expliquées autrement, et l'hypothèse émise et à tester est que ces différences sont fonction « d'un facteur mâle », par le biais de la quantité ou/et la qualité des spermatozoïdes et des sécrétions mâles qui leur sont associées.

L'apparition dans un habitat semi-clos de mâles et femelles miniaturisés de *E. vuilleti* reflète la grande plasticité comportementale de cette espèce. En pratiquant l'hyperparasitisme du Pteromalidae concurrent, les nouveaux adultes Eupelmidae miniaturisés conservent toutes leurs potentialités reproductives pour réinvestir une population d'hôtes primaires quand la pression compétitive s'abaissera. Cette pression compétitive due à la vie communautaire dans un habitat relativement clos (type greniers pour graines) favorise l'expression d'une coévolution entraînant l'espèce *E. vuilleti* vers une adaptation comportementale préservant sa reproduction future, alors que l'espèce *D. basalis* a adopté une stratégie d'évasion [4,42].

Références

- [1] J. Huignard, B. Leroi, I. Alzouma, J.-F. Germain, Oviposition and development of *Bruchidius atrolineatus* (Pic) and *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae) in *Vigna unguiculata* (Walp) cultures in Niger, *Insect Sci. Appl.* 8 (1985) 691–699.
- [2] J.-P. Monge, P. Dupont, A. Idi, J. Huignard, The consequences of interspecific competition between *Dinarmus basalis* (Rond.) (Hymenoptera : Pteromalidae) and *Eupelmus vuilleti* (CRW) (Hymenoptera : Eupelmidae) on the development of their host populations, *Acta Oecol.* 16 (1995) 19–30.
- [3] G. Doury, D. Rojas-Rousse, Reproductive potential in the parasitoid *Eupelmus orientalis* (Hymenoptera : Eupelmidae), *Bull. Entomol. Res.* 84 (1994) 199–206.
- [4] F.A.N. Van Alebeek, D. Rojas-Rousse, L. Leveque, Interspecific competition between *Eupelmus vuilleti* and *Dinarmus basalis*, two ectoparasitoids of Brucidae larvae and pupae, *Entomol. Exp. Appl.* 69 (1993) 21–31.
- [5] L. Leveque, J.-P. Monge, D. Rojas-Rousse, F.A.N. Van Alebeek, J. Huignard, Analysis of multiparasitism by *Eupelmus vuilleti* (Craw) (Eupelmidae) and *Dinarmus basalis* (Rondani) (Pteromalidae) in the presence of one of their common hosts, *Bruchidius atrolineatus* (Pic) (Coleoptera : Bruchidae), *Oecologia* 94 (1993) 272–277.
- [6] R. Kalmès, S. Dronnet, D. Rojas-Rousse, C. Chevrier, Bilan nutritionnel et *sex ratio* à l'émergence chez deux ectoparasitoïdes solitaires (*Eupelmus vuilleti* et *Eupelmus orientalis* Craw) (Hyménoptères : Eupelmidae) : comparaison lors du passage du parasitisme primaire (hôte primaire : *Callosobruchus maculatus* : Coléoptère, Bruchidae) à l'hyperparasitisme (hôte secondaire : *Dinarmus basalis*, Hyménoptère, Pteromalidae), in : V^e Conférence internationale francophone d'entomologie, Québec, Canada, 2002, p. 135.
- [7] C.P. Clausen, *Entomophagous Insects*, McGraw-Hill, New York, 1940.
- [8] D. Rojas-Rousse, G. Doury Terrasse, C. Terrasse, R. Kalmès, Behavioural plasticity in the stinging act of female ectoparasitoids, *Physiol. Entomol.* 20 (1995) 147–154.
- [9] D. Rojas-Rousse, A. Ndoutoume, R. Kalmès, Hyperparasitisme facultatif de parasitoïdes en cours de développement par les femelles des ectoparasitoïdes *Eupelmus vuilleti* et *Eupelmus orientalis* Craw, *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. III* 322 (1999) 393–399.
- [10] D.J. Sullivan, W. Völkl, Hyperparasitism: Multitrophic Ecology and Behavior, *Annu. Rev. Entomol.* 44 (1999) 291–315.
- [11] H.C. J. Godfray, *Parasitoids. Behavioral and Evolutionary Ecology*, Princeton University Press, Princeton, 1994.
- [12] J.D. Grandgirard Poinso, L. Krespi, J.P. Nénon, A.M. Cortesero, Cost of secondary parasitism in the facultative hyperparasitoid *Pachycrepoideus dubius*: does host size matter? *Entomol. Exp. Appl.* 103 (2002) 239–248.
- [13] D.R. Frohlich, V.J. Tepedino, Sex ratio, parental investment, and interparental variability in nesting success in a solitary bee, *Evolution* 40 (1896) 142–151.
- [14] M.D. Johnson, The relationship of provision weight to adult weight and sex ratio in the solitary bee, *Ceratina calcarata*, *Ecol. Entomol.* 13 (1988) 165–170.
- [15] J. Bosch, N. Vincens, Body size an estimator of production costs in a solitary bee, *Ecol. Entomol.* 27 (2002) 129–137.
- [16] H.C.J. Godfray, J.M. Cook, Mating systems of parasitoid wasps, in: *The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids*, Cambridge University Press, 1997, pp. 211–225.
- [17] D.L.J. Quicke, *Parasitic Wasps*, Chapman & Hall, London, 1997.

- [18] R. Kalmès, A. Ndoutoume, D. Rojas-Rousse, Installation de l'hyperparasitisme facultatif chez l'hyménoptère *Eupelmus orientalis* en cage à populations (Hymenoptera : Eupelmidae), *Ann. Soc. Entomol.* 35 (1999) 397–403.
- [19] D. Damiens, Caractérisation du stock de spermatozoïdes et stratégies de reproduction chez deux hyménoptères parasitoïdes de bruches, thèse de doctorat, université de Tours, Tours, 2001.
- [20] C. Bressac, C. Chevrier, Offspring and sex ratio are independent of sperm management in *Eupelmus orientalis* females, *J. Insect Physiol.* 44 (1998) 351–359.
- [21] D. Damiens, C. Bressac, C. Chevrier, The effect of age on sperm stock and egg laying in the parasitic wasp *Dinarmus basalis*, *J. Insect Sci.* 3.22 (2003) 5.
- [22] G. Pérez-Lachaud, M. Campan, Comportement sexuel et stratégie reproductrice chez le *Chryseida bennetti* Burks (Hymenoptera : Eurytomidae), parasitoïde de la bruche du haricot. I. Effet de l'âge des partenaires, *Can. J. Zool.* 72 (1994) 126–134.
- [23] E. Darrouzet, J. Huignard, C. Chevrier, Effect of differential host exposure on reproduction in the solitary ectoparasitoid *Eupelmus vuilleti*, *Ent. Exp. Appl.* 103 (2002) 73–81.
- [24] C. Terrasse, Mise en évidence et hypothèses de régulation du stade de l'hôte *Callosobruchus maculatus* F. et de sa taille sur le taux sexuel d'un de ses parasitoïdes *Bruchocida vuilleti* Cwf. (Hymenoptera : Eupelmidae), thèse de doctorat, université de Tours, 1986.
- [25] C. Terrasse, B. Nowbahari, D. Rojas-Rousse, Sex ratio regulation in the wasp *Eupelmus vuilleti* Craw an ectoparasitoid on bean weevil larvae, *J. Insect Behav.* 9 (1996) 91–99.
- [26] E.L. Charnov, The genetical evolution of patterns of sexuality: Darwinian fitness, *Am. Nat.* 113 (1979) 465–480.
- [27] E.L. Charnov, *The Theory of Sex Allocation*, Princeton University Press, 1982, 335 p.
- [28] B.H. King, H. E Lee, Test of adaptiveness of sex ratio manipulation in a parasitoid wasp, *Behav. Ecol. Sociobiol.* 35 (1994) 437–443.
- [29] R. Sequeira, M. Mackauer, Seasonal variation in body size and offspring sex ratio in field populations of the parasitoid wasp, *Aphidius ervi* (Hymenoptera : Aphidiidae), *Oikos* 68 (1993) 340–346.
- [30] K.M. Heinz, 1996, Sex-specific reproductive consequences of body size in the solitary ectoparasitoid, *Diglyphus begini*, *Evolution* 45 (1991) 1511–1515.
- [31] M. Otto, M. Mackauer, The developmental strategy of an idio-bionte parasitoid, *Dendrocerus carpenteri*: influence of variations in host quality on offspring growth and fitness, *Oecologia* 117 (1998) 353–364.
- [32] J.A. Harvey, M. Bezemer, J.A. Elzinga, M.R. Strand, Development of the solitary endoparasitoid *Microplitis demolitor*: host quality does not increase with host age and size, *Ecol. Entomol.* 29 (2004) 35–43.
- [33] T. Ueno, Host-size-dependent sex ratio in a parasitoid wasp, *Res. Popul. Ecol.* 41 (1999) 47–57.
- [34] L.A. Sagarra, C. Vincent, R.K. Stewart, Body size an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera : Encyrtidae), *Bull. Entomol. Res.* 91 (2001) 363–367.
- [35] M.A. Jervis, M.J.W. Copland, The life cycle, in: *Insects Natural Enemies: Practical Approaches to their Study and Evaluation*, Chapman & Hall, London, 1996, pp. 63–160.
- [36] J. Van den Assem, J.J.A. Van Iersel, R. L Los-Den Hartogh, Is being large more important for female than for male parasitic wasps?, *Behaviour* 108 (1989) 160–195.
- [37] R. Dawkins, *The Extended Phenotype*, Freedman, Oxford, 1982.
- [38] D. Damiens, C. Bressac, J.-P. Brillard, C. Chevrier, Qualitative aspects of sperm stock in males and females from *Eupelmus orientalis* and *Dinarmus basalis* (Hymenoptera : Chalcidoidea) as revealed by dual fluorescence, *Physiol. Entomol.* 27 (2002) 97–102.
- [39] G. Boivin, S. Jacob, D. Damiens, Spermatogeny as a life-history index in parasitoid wasps, *Oecologia* 143 (2005) 198–202.
- [40] D. Giron, A. Rivero, N. Mandon, E. Darrouzet, J. Casas, The physiology of host feeding in parasitic wasps: implications for survival, *Funct. Ecol.* 16 (2002) 750–757.
- [41] C. Terrasse, D. Rojas-Rousse, Distribution de la ponte et évitement du superparasitisme chez l'hyménoptère solitaire *Bruchocida vuilleti* Cwf. (Hym., Eupelmidae), parasite des stades larvaires de son hôte, *Callosobruchus maculatus* F. (Col., Bruchidae), *Z. Angew. Entomol.* 101 (1986) 243–256.
- [42] H. Zwölfer, Strategies and counter-strategies in insect population systems competing for space and food in flower heads and plant galls, *Fortschr. Zool.* 25 (1979) 331–353.