

UNIVERSITÉ DE TOURS

ÉCOLE DOCTORALE SSBCV

UMR 7261 – CNRS, Faculté des Sciences et Techniques
Equipe Evolution Sociale et Réponses à l'Environnement
Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte - Tours

THÈSE présentée par : Anthony MATHIRON

soutenue le : 13 novembre 2019

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Tours**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la vie / Écologie comportementale

AGRESSIVITÉ ET RÉOLUTION DES CONFLITS CHEZ UN HYMÉNOPTÈRE PARASITOÏDE SOLITAIRE, *EUPELMUS VUILLETI* :

*Étude des stratégies comportementales
et de leur médiation hormonale*

THÈSE dirigée par :

Mme GOUBAULT Marlène
M. EARLEY Ryan

Maître de conférences, université de Tours
Professeur associé, université d'Alabama

RAPPORTEURS :

M. DESOUHANT Emmanuel
M. SIAUSSAT David

Professeur, université Claude Bernard Lyon 1
Maître de conférences, Sorbonne université

JURY :

M. LAZZARI Claudio
Mme CORTESERO Anne-Marie
M. DESOUHANT Emmanuel
M. SIAUSSAT David
M. KELLER Matthieu
Mme GOUBAULT Marlène
M. EARLEY Ryan

Professeur, université de Tours (Président du Jury)
Professeure, université de Rennes 1
Professeur, université Claude Bernard Lyon 1
Maître de conférences, Sorbonne université
Directeur de recherche CNRS, université de Tours
Maître de conférences, université de Tours
Professeur associé, université d'Alabama



*« Celui qui combat peut perdre,
mais celui qui ne combat pas a déjà perdu. »*

Bertolt Brecht, dramaturge allemand

Remerciements

Je profite de ces quelques lignes pour adresser mes sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidé à réaliser cette thèse et sans qui tout ceci n'aurait pas été possible.

Je tiens tout d'abord à remercier *Marlène Goubault et Ryan Earley* d'avoir été mes directeurs de thèse, de m'avoir fait confiance dans tout ce que j'ai entrepris au cours de ce projet et pour leur soutien scientifique et humain. Merci Marlène (alias Brenda), pour ta disponibilité et ta jovialité. Merci Ryan, de m'avoir permis de venir découvrir l'Alabama pendant 2 mois, et parce qu'avec toi tout est toujours « awesome ». En plagiant une célèbre réplique de film, « la vie c'est comme une boîte de chocolats, on ne sait jamais sur qui on va tomber ». Je pense que dans mon cas, je n'aurais pas pu rêver mieux comme encadrants de thèse.

Je souhaite remercier l'ensemble des membres de mon jury : *Anne-Marie Cortesero, Matthieu Keller, Claudio Lazzari* ainsi qu'*Emmanuel Desouhant* et *David Siaussat* qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de ma thèse.

Merci également aux membres de mon comité de thèse : *Nathalie Mondy, Charlotte Lécureuil, Matthieu Keller* et *Joël Meunier*, qui ont su me conseiller et m'aiguiller au cours de ces 3 années.

Merci à *David Giron*, directeur de l'IRBI, de m'avoir accueilli au sein de son institut, et pour tout ce qu'il fait pour dynamiser et rendre toujours plus agréable la vie au laboratoire. Merci également à *Christelle Suppo* pour son suivi humain tout au long de ma thèse.

Je remercie l'ensemble du personnel de l'IRBI avec qui j'ai pu partager mes difficultés et échanger nos réflexions scientifiques. Merci notamment à *Fernando Guerrieri* et *Marie-Anne Wycke* d'avoir accepté d'être mon parrain et ma marraine de thèse. Merci également à *Karine Musset* et *Annie Bezier* pour leur soutien technique et les conversations croustillantes lors des repas le midi, et à *Nathalie Duschesne* pour sa disponibilité et son professionnalisme, et pour m'avoir accueilli avec le sourire tous les matins en arrivant à l'institut.

Merci à tous les membres de l'équipe ESORE avec qui j'ai partagé de nombreuses réunions aussi bien scientifiques que conviviales. Merci en particulier à *Charlotte, Irene, Séverine, Joël, Franck, Christophe, et Simon* pour leurs conseils et leur aide lors de mes présentations.

Je tiens à remercier toutes les doctorants, postdoctorants et ATER, et en particulier *Caroline, Marie-Anne, Sophie et Fanny* avec qui j'ai partagé le bureau du Milieu, ainsi que *Lucas, Florent, Antoine, Nicolas, Mourad, Lorène et Rihab*. Merci pour tout, les Chouquettes ! Merci de votre soutien, tant scientifique que moral, ainsi que pour les fous rires qui ont rendus mes journées à l'IRBI si agréable pendant 3 ans.

Merci aux enseignants du département Biologie Animale et Génétique qui m'ont fait confiance et qui m'ont permis réaliser mes premières missions d'enseignement, notamment lors des différents TP et TD que j'ai pu encadrer.

Pour finir je remercie tous les membres de ma famille, et en particulier mes parents, pour leur soutien sans faille. Il n'est pas toujours aisé pour un étudiant de réaliser ses projets, surtout lorsque cela demande parfois de partir à l'autre bout du monde. Je ne vous remercierai jamais assez pour tout ce que vous avez fait.

Enfin, merci à toi Julie. Une thèse apporte parfois son lot de frustrations et de mécontentements, merci de m'avoir supporté dans ces moments là, et de m'avoir montré que tu étais fière lors de mes réussites. Merci à toi qui sais me rendre la vie tellement belle et agréable.



Curriculum Vitae

Parcours scolaire

2016-2019	Doctorat en Sciences de la Vie (université de Tours, Tours)	
2012-2014	Master Biologie des Organismes et des Populations, option écologie comportementale (université de Bourgogne, Dijon)	
	Biologie et gestion des populations	60h
	Écologie évolutive, Génétique des populations	75h
	Écologie quantitative, Modélisation, Biostatistiques	100h
2009-2012	Licence Biologie des Organismes (université de Bourgogne, Dijon)	
	Comportement animal	60h
	Projet tuteuré en Biologie intégrative, Initiation à la Programmation	40h
	Biologie animale, Physiologie animale	246h
	Biostatistiques (logiciel R) et Écologie des interactions	100h
	Écologie, Évolution, Génétique des populations	171h
2009-2008	Baccalauréat scientifique option Sciences de la Vie et de la Terre	

Expérience de recherche

2016-2019	Doctorat en Sciences de la Vie à l'université de Tours (FR). Supervisé par Marlène Goubault et Ryan Earley	
	Étude des facteurs (valeur de la ressource, apparemment génétique, hormones) influençant l'agressivité et l'issue des combats pour l'accès à un hôte chez les femelles d'une guêpe parasitoïde solitaire <i>Eupelmus vuilleti</i>	
Avril-Juillet 2016	Projet Chercheur Libre à l'université de Liège (BE). Supervisé par Mathieu Denoël	
	Effet de stress environnementaux (température et niveau d'eau) sur la métamorphose du triton palmé (<i>Lissotriton helveticus</i>)	
Février-Août 2014	Stage de Master II à l'université de Saskatchewan (CA). Supervisé par Maud Ferrari	
	Effet de l'apprentissage individuel et social du risque de prédation chez les ménés (<i>Pimephales promelas</i>)	
	Effet d'un prédateur hybride sur la réponse anti-prédateur chez les têtards de la grenouille des bois (<i>Lithobates sylvaticus</i>)	
Mars-Mai 2013	Stage de Master I à l'Université Pierre et Marie Curie (FR). Supervisé par David Laloï	
	Choix de partenaire et stratégies d'appariement chez les femelles du lézard vivipare (<i>Lacerta vivipara</i>)	
Juin 2012	Stage volontaire à l'Université de Bourgogne (FR). Supervisé par Paul Alibert	
	Étude morphométrique sur la discrimination de deux espèces françaises de mulots (<i>Apodemus flavicollis</i> et <i>Apodemus sylvaticus</i>)	

Expérience d'enseignement

2016-2019	L2 Sciences de la vie
	TP Ecologie – Éthologie (16h) TP Biologie des Organismes (48h)
	L3 Sciences de la vie
	TP Biologie Du Comportement (50h)
	TP Ecophysiologie des Organismes (44h) TD Ecophysiologie des Organismes (4h)

Encadrement d'étudiants

Mai-Juillet 2019	Carly Norden (Master II, université d'Alabama, USA)
	Anna Reding (Master II, université d'Alabama, USA)
Avril-Mai 2019	Charly Dixneuf (Master I, université de Tours, FR)
Avril-Mai 2018	Patrice Pottier (Master I, université de Tours, FR)
	Marion Cristante (Master I, université de Tours, FR)
Juin 2017	Patrice Pottier (Licence 3, université de Tours, FR)
Avril-Mai 2017	Bérénice Chesnais (Master I, université de Tours, FR)

Compétences

Langues étrangères	Anglais : lu, parlé, écrit
	Espagnol : notions
Outils d'analyses	Logiciel statistique R, SPSS (notion), Image J
Outils informatiques	Word, Excel, Power Point
FELASA B	
Permis B	

Activités complémentaires

Représentant élu du corps des doctorants au conseil de l'UMR 726I

Membre du groupe de travail sur la participation de l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte aux 80 du CNRS et 50 ans de l'Université

Membre de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal

Expérience professionnelle

Oct. 2014-
Mars 2016 Missions en tant qu'intérimaire

Juillet 2011 Animateur vie de groupe chantier de jeunes bénévoles (Forcalquier, FR)
Restauration et aide à la découverte du patrimoine culturel de la région PACA

Février 2012 Stage volontaire dans la partie zoologique de la citadelle de Besançon (FR)
Aide à la préparation de la nourriture et aux soins des animaux

Articles scientifiques

Mathiron, A.G.E., Dixneuf, C., Mondy, N., Earley, R.L., & Goubault, M. Ecdysteroids affect female reproductive status and outcome of contest over host in a solitary parasitoid wasp (en préparation).

Tibbetts, E.A., Laub, E., **Mathiron, A.G.E.**, & Goubault, M. 2019. The challenge hypothesis in insects. *Hormones and Behavior*. **Impact Factor: 4.42**

Mathiron, A.G.E., Pottier, P., & Goubault, M. 2019. Keep calm, we know each other: kin recognition affects aggressiveness and conflict resolution in a solitary parasitoid. *Animal Behaviour*, 151, 103-111
Impact Factor: 3.07

Mathiron, A.G.E., Earley, R.L., & Goubault, M. 2019. Juvenile Hormone manipulation affects female reproductive status and aggressiveness in a non-social parasitoid wasp. *General and Comparative Endocrinology*, 274, 80-86. **Impact Factor: 2.82**

Mathiron, A.G.E., Pottier, P., & Goubault, M. 2018. Let the most motivated win : resource value components affect contest outcome in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology*, 29(5), 1088–1095. **Impact Factor: 3.35**

Mathiron, A.G.E., Lena, J., Baouch, S., & Denoël, M., 2017. The 'male escape hypothesis': sex-biased metamorphosis in response to climatic drivers in a facultatively paedomorphic amphibian. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1853). **Impact Factor: 4.85**

Mathiron, A.G.E., Crane, A.L., & Ferrari, M.C.O. 2015. Individual vs. social learning of predator information in fish : does group size affect learning efficacy ? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69, (6), 939-949. **Impact Factor: 2.47**

Chivers, D.P., **Mathiron, A.**, Sloychuk, J.R., & Ferrari, M.C.O. 2015. Responses of tadpoles to hybrid predator odours: strong maternal signatures and the potential risk/response mismatch. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 282. **Impact Factor: 4.85**

Crane, A.L., **Mathiron, A.G.E.**, & Ferrari, M.C.O. 2015. Social learning in a high-risk environment: incomplete disregard for the 'minnow that cried pike' results in culturally -transmitted neophobia. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 282. **Impact Factor: 4.85**

Communications effectuées ou prévues

9-11 Sept. 2019 Congrès IEIC6, Perugia (IT)

Oral – When hormones get involved! Ecdysteroids affect female reproductive status and outcome of contest over host in a solitary parasitoid wasp

11-14 Juin 2019 Colloque SFECA 2019, Lille (FR)

Oral – Keep calm, we know each other: kin recognition affects aggressiveness and conflict resolution in a solitary parasitoid wasp

27-29 Mai 2019 41^{ème} journées des Entomophagistes, Antibes-Juan-Les-Pins (FR)

Oral (présenté par M. Goubault) – J'ai les hormones qui me chatouillent ! Effet de l'hormone juvénile sur le statut reproducteur et l'agressivité des femelles d'un hyménoptère parasitoïde

11-12 Oct. 2018 31^{ème} colloque Biotechnocentre, Seillac (FR)

Oral – Je ne suis pas d'humeur : effet de l'hormone juvénile sur le statut reproducteur et l'agressivité chez les femelles d'une guêpe parasitoïde

29-30 Aug. 2018 Workshop Broader perspectives on animal contests, Queen's University Belfast (UK)

Oral – Let the most motivated win: resource value components affect contest outcome in a parasitoid wasp

2-6 July 2018 XI European Congress of Entomology Naples, (IT)

Oral (présenté par M. Goubault) – Does kin recognition affect aggressiveness and outcome of contests in females of the solitary parasitoid wasp, *Eupelmus vuilleti*?

5-6 June 2018 Workshop Hormones and Behaviors in Arthropods, Tours (FR)

Oral – Does Juvenile Hormone manipulation affect female reproductive status and aggressiveness during competition for hosts in a non-social parasitoid wasp?

12-13 Oct. 2017 30^{ème} colloque Biotechnocentre (**prix du meilleur poster**), Seillac (FR)

Poster – Aggressiveness and conflict resolution in females of a parasitoid wasp: let the most motivated win!

Résumé

Les individus d'une même espèce cherchent et exploitent les mêmes ressources et peuvent, de ce fait, entrer en compétition pour l'acquisition de certaines d'entre elles. Au cours d'un conflit, les individus peuvent interagir directement les uns avec les autres en exprimant des comportements agonistiques (compétition par interférence). Chez les parasitoïdes solitaires, où un seul individu peut se développer par hôte, l'hôte représente la ressource la plus importante pour laquelle les femelles peuvent entrer en compétition directe. Les stratégies comportementales des femelles et l'issue des conflits déterminent ainsi directement leur succès reproducteur.

Au cours de cette thèse, nous avons étudié les facteurs susceptibles de modifier les comportements des individus et l'issue des combats pour l'accès à un hôte chez les femelles d'un hyménoptère parasitoïde solitaire, *Eupelmus vuilleti* Crawford (Hymenoptera : Eupelmidae). Nous avons notamment exploré l'effet de la valeur de l'hôte : une larve ou une nymphe de la bruche du Niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), en étudiant comment la pré-expérience de ponte sur ces hôtes et la charge en œufs des femelles interagissent avec la valeur réelle des hôtes sur l'agressivité et l'issue des conflits. Nous avons par ailleurs testé si le niveau d'apparentement génétique entre les compétitrices jouait un rôle dans l'évitement de la compétition et la résolution des conflits, en déterminant si les compétitrices sont capables d'identifier et de discriminer leurs apparentées. Puis, nous nous sommes intéressés aux mécanismes sous-jacents à l'expression des comportements agressifs durant les conflits, et plus spécifiquement à la médiation hormonale de l'agressivité. Nous nous sommes concentrés sur deux familles d'hormones déjà connues pour jouer un rôle majeur dans la régulation de différents traits d'histoire de vie et des comportements chez les insectes adultes : l'hormone juvénile (JH) et les ecdystéroïdes (ESH).

Nous avons premièrement mis évidence que différentes composantes de la valeur objective (stade de développement de l'hôte) et subjective (charge en œufs des femelles, pré-expérience de ponte) de l'hôte interagissent et modifient l'agressivité et la probabilité de gagner des parasitoïdes. De plus, la discrimination de parentèle opère lors des combats : les conflits agressifs et non résolus sont moins fréquents lorsque les femelles sont apparentées génétiquement (phenotypic matching) et/ou émergent d'une même graine de Niébé (familiarité). Pour finir, la JH et les ESH agissent en tant que médiateurs du comportement des femelles, puisque la JH augmente l'agressivité des femelles et que les ESH augmentent la probabilité qu'elles remportent l'accès à l'hôte.

L'ensemble des travaux réalisés mettent en lumière le rôle à la fois de la physiologie des individus (hormones), du degré d'apparentement (discrimination de parentèle) et de l'asymétrie entre les adversaires (valeur de la ressource) sur les comportements des insectes lors d'un conflit. Nos résultats permettent ainsi d'approfondir et d'élargir notre compréhension de l'évolution des stratégies comportementales adoptées par les animaux en situation de compétition intraspécifique directe.

Mots-clés : Écologie comportementale, endocrinologie, compétition intraspécifique, conflits pour l'accès à une ressource, comportements agonistiques entre femelles, valeur de la ressource, théorie de la sélection de parentèle, médiation hormonale du comportement, guêpe ectoparasitoïde solitaire, *Eupelmus vuilleti*, *Callosobruchus maculatus*, *Vigna unguiculata*.

Résumé en anglais

Individuals of the same species seek and exploit the same resources, and they can compete for the acquisition of some of them. During a conflict, individuals can interact directly with each other by displaying agonistic behaviours (interference competition). In solitary parasitoids, where only one individual can develop per host, the host is the most important resource for which females can compete for. Female behavioural strategies and the outcome of conflict thus directly determine their reproductive success.

In this thesis, we investigated the factors that are likely to modify the behaviour of individuals and the outcome of contest over host in females of a solitary parasitoid wasp, *Eupelmus vuilleti* Crawford (Hymenoptera: Eupelmidae). In particular, we investigated the effect of host value: a larva or a pupa of the cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), studying how a different pre-oviposition experience affected aggressiveness and contest outcome over host of different quality. We also tested whether the level of genetic relatedness between competitors plays a role in competition and conflict resolution by determining whether parasitoid females are able to identify and discriminate against their relatives. We also investigated the underlying mechanisms related to the expression of aggressive behaviours during conflict, and more specifically to the hormonal mediation of aggressiveness. We focused on two families of hormones already known to play a major role in regulating different life-history traits and behaviours in adult insects: juvenile hormone and ecdysteroids.

We first demonstrated that different components of the objective (developmental stage of host) and subjective (egg load, oviposition pre-experience) of the host interact and modify the aggressiveness of parasitoid females and their probability of winning a contest. In addition, kin discrimination occurs during fight: aggressive and unresolved conflicts are less frequent when the females are genetically related and / or emerge from the same cowpea seed (familiarity). Finally, juvenile hormone (JH) and ecdysteroids (ESH) act as mediators of female behaviour during conflict, as JH increases aggressiveness of females and ESH increase the likelihood of being the winner.

All our achievements highlight the role of individual physiology (hormones), the degree of genetic relatedness (kin discrimination) and the asymmetry between contestants (value of the resource) on the behaviour of insects during a conflict. Our results therefore enable to deepen and broaden our understanding of the evolution of behavioural strategies adopted by animals in a situation of direct intraspecific competition.

Key words: Behavioural ecology, endocrinology, intraspecific competition, conflict over resource access, agonistic behaviours between females, resource value, kin selection theory, hormonal mediation of behaviour, solitary ectoparasitoid wasps, *Eupelmus vuilleti*, *Callosobruchus maculatus*, *Vigna unguiculata*.

Table des matières

Liste des tableaux	17
Liste des figures.....	18
 Partie I - Introduction générale	 21
 Chapitre I - État de l'art	 21
Un monde conflictuel	22
La compétition intraspécifique en bref.....	22
Des conflits et des parasitoïdes	23
Quand les asymétries entrent en jeu	25
Asymétrie dans les capacités à se battre	25
Asymétrie dans la valeur de la ressource	26
Asymétrie dans le statut de propriétaire	28
Une issue paradoxale ?.....	29
Comment les animaux évaluent une asymétrie ?	29
Une affaire de famille : la sélection de parentèle	32
Un peu de théorie	32
La reconnaissance de parentèle.....	32
Lorsque la dispersion s'en mêle.....	33
Effet de la reconnaissance de parentèle sur les conflits entre parasitoïdes	34
Les mécanismes sous-jacents : le rôle des hormones	35
L'hypothèse du challenge chez les vertébrés	36
Chez les insectes	37
Structures, sites de production et voies de biosynthèse.....	38
Les effets sur les traits d'histoires de vie et les comportements non-agressifs	40
Interactions entre la JH et les ESH.....	41
Mais où sont passés les parasitoïdes ?.....	42
Objectifs de la thèse	42
Organisation de la thèse	44
 Chapitre 2 - Description du système tritrophique	 46
La plante : <i>Vigna unguiculata</i> (Walp)	46
Description.....	46
Le cycle biologique et le stockage.....	47
L'hôte : <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fab)	48
Description.....	48
Le cycle biologique	49
Les conditions d'élevage au laboratoire	50

Le parasitoïde : <i>Eupelmus vuilleti</i>	50
Description.....	50
L'accouplement.....	51
L'exploitation de l'hôte.....	51
Le développement.....	53
Le statut reproducteur et le rôle des hormones.....	53
La compétition entre femelles pour l'accès à un hôte.....	54
Les conditions d'élevage au laboratoire.....	55

Partie II - Les facteurs influençant les comportements lors des conflits 59

Chapitre 3 - Effet de la valeur de l'hôte..... 59

Résumé	60
Introduction	61
Matériel et Méthodes	63
Élevage en laboratoire	63
Expérience 1: effet de la RV objective et subjective sur les décisions de ponte et la fitness des femelles	63
Expérience 2: effet de la RV objective et subjective sur l'agressivité et l'issue des combats.....	64
Analyses statistiques	65
Expérience 1.....	65
Expérience 2	65
Résultats	66
Expérience 1: effet de la RV objective et subjective sur les décisions de ponte et la fitness des femelles	66
Fitness des femelles	66
Décisions de ponte	66
Expérience 2: effet de la RV objective et subjective sur l'agressivité et l'issue des combats.....	67
Discussion	69
Conclusion	72
Remerciements	72

Chapitre 4 - Effet de l'apparement génétique et de la familiarité..... 73

Résumé	74
Introduction	75
Matériel et Méthodes	77
Élevage en laboratoire	77
Génotypes	77
Préparation des femelles pour les combats	77
Procédure expérimentale.....	78

Analyses statistiques	79
Éthique	80
Résultats	80
Effet de la combinaison des génotypes	80
Escalade et résolution des conflits	80
Nombre d'attaques durant les conflits	81
Discussion	82
Conclusion	85
Remerciements	85

Partie III - Le rôle des hormones 86

Chapitre 5 - Revue de la littérature..... 86

Résumé.....	87
Introduction.....	88
Vue d'ensemble des hormones des insectes.....	89
L'hormone juvénile	89
Les hormones ecdystéroïdes.....	95
Difficultés à appliquer l'hypothèse du challenge aux insectes	95
Challenge social à court terme	98
Vertébrés.....	98
Insectes	99
Challenge social à long terme.....	99
Vertébrés.....	99
Insectes	99
Réponse à court terme au rang de dominance.....	100
Vertébrés.....	100
Insectes	101
Les ornements influencent les hormones.....	102
Réponse à long terme au rang de dominance, suppression physiologique.....	103
Vertébrés.....	103
Insectes	103
Directions futures ; ce n'est que le début.....	104
Remerciements	105

Chapitre 6 - Rôle de l'Hormone Juvénile..... 107

Résumé.....	108
Introduction.....	109
Matériel et Méthodes.....	110
Élevage en laboratoire	110
Expérience I: effet de la JH sur le statut reproducteur des femelles	111

Expérience 2: effet de la JH sur l'agressivité des femelles et l'issue des combats	111
Analyses statistiques	113
Résultats	113
Expérience 1: effet de la JH sur le statut reproducteur des femelles	113
Expérience 2: effet de la JH sur l'agressivité des femelles et l'issue des combats	114
Discussion	116
Effet de la JH sur le statut reproducteur des femelles	116
Effet de la JH et de la valeur subjective de la ressource sur la compétition entre femelles	117
Évolution des fonctions de la JH au sein des hyménoptères avec différents degrés de socialité	118
Conclusion	118
Remerciements	118
 Chapitre 7 - Rôle des ecdystéroïdes	119
Résumé	120
Introduction	121
Matériel et Méthodes	123
Élevage en laboratoire	123
Préparation des femelles pour les observations comportementales.....	123
Expérience 1: Taux d'ESH, agressivité et issue des combats	123
Procédure expérimentale	123
Quantification des ESH via des immunoessais enzymatiques.....	124
Expérience 2: Effet de l'ecdysone sur le statut reproducteur des femelles.....	124
Procédure expérimentale	124
Quantification des ESH.....	125
Expérience 3: Effet de l'ecdysone sur l'agressivité des femelles et l'issue des combats.....	125
Analyses statistiques	125
Résultats	127
Expérience 1: Taux d'ESH, agressivité et issue des combats	127
Expérience 2: Effet d'un traitement à l'ecdysone sur le statut reproducteur des femelles.....	128
Expérience 3: Effet d'un traitement à l'ecdysone sur l'agressivité des femelles et l'issue des combats	130
Discussion	131
Effet à court terme des combats sur les taux d'ESH.....	131
Effet de l'ecdysone sur le statut reproducteur des femelles	132
Effet de l'ecdysone et de la valeur subjective de la ressource value sur la compétition entre femelles.	133
Comment l'ecdysone peut augmenter la probabilité de gagner un combat ?	133
Conclusion	134
Remerciements	134
 Partie IV	135
 Discussion générale et perspectives	135

Ma thèse en bref	136
Ajustement des stratégies comportementales des individus lors de conflits	137
Se battre pour accéder à un hôte chez les parasitoïdes : une histoire de valeur.....	137
Les mécanismes de la reconnaissance interindividuelle	139
Des modèles d'estimations basées sur la RV.....	141
La médiation hormonale du comportement	143
Quelle hormone pour quelle action ?.....	143
Les amines biogènes en action.....	145
L'hypothèse du challenge appliquée à <i>Eupelmus vuilleti</i>	148
L'évolution de la médiation hormonale du comportement chez les hyménoptères.....	149
Conclusion	150
 Bibliographie	 153

Liste des tableaux

Partie I - Introduction générale

Chapitre 2 - Description du système tritrophique

Tableau 2.I. Position systématique des différentes espèces composant le système tritrophique étudié. .46

Partie II - Les facteurs influençant les comportements lors des conflits

Chapitre 3 - Effet de la valeur de l'hôte

Tableau 3.I. Effet de la charge en œufs initiale, de la pré-expérience de ponte et du premier hôte rencontré sur la décision de ponte des femelles 66

Tableau 3.2. Effet de la différence de charge en œufs initiale, de la pré-expérience de ponte et de la qualité de l'hôte sur le nombre relatif d'attaques des femelles..... 68

Tableau 3.3. Effet de la différence de charge en œufs initiale, de la pré-expérience de ponte et de la qualité de l'hôte sur l'issue des combats..... 69

Partie III - Le rôle des hormones

Chapitre 5 - Revue de la littérature

Tableau 5.I. L'hypothèse du challenge et l'hormone juvénile chez les insectes..... 91

Tableau 5.2. L'hypothèse du challenge et les ecdystéroïdes chez les insectes 96

Chapitre 6 - Rôle de l'hormone juvénile

Tableau 6.I. Effet de la différence de charge en œufs initiale et du type d'injection reçue sur les comportements agonistiques des femelles 115

Tableau 6.2. Effet de la différence de charge en œufs initiale et du type d'injection reçue sur la probabilité de gagner des femelles 116

Chapitre 7 - Rôle des ecdystéroïdes

Tableau 7.I. Effet du nombre relatif d'attaques et de la différence relative dans les taux d'ESH sur la probabilité de gagner des femelles focales 127

Tableau 7.2. Effet du type d'injection reçue, du nombre relatif d'attaques et de la différence relative de charge en œufs sur la probabilité de gagner des femelles focales..... 130

Liste des figures

Partie I - Introduction générale

Chapitre I - État de l'art

Figure I.1. Chenille d' <i>Achatia distincta</i> (Lepidoptera : Noctuidae) parasitée par un ectoparasitoïde grégaire, <i>Eulophus anomocerus</i> Crawford (Hymenoptera : Eulophidae)	24
Figure I.2. Probabilité de gagner un combat en fonction de la différence de taille corporelle entre les mâles chez <i>Melittobia australica</i>	25
Figure I.3. Effet de différentes composantes de la valeur subjective de la ressource sur les combats entre femelles chez le parasitoïde solitaire <i>Dinarmus basalis</i>	27
Figure I.4. Probabilité que des femelles gagnent un combat en fonction de leur statut de résidence sur leur hôte chez la guêpe parasitoïde <i>Goniozus nephantidis</i>	28
Figure I.5. Relations attendues entre la durée des combats et le RHP.....	30
Figure I.6. Relation entre la durée d'un combat et le RHP du perdant, du gagnant, ou le RHP moyen d'une dyade assortie par le RHP.....	31
Figure I.7. Apparemment minimal requis pour favoriser l'altruisme, en fonction de l'échelle de compétition	34
Figure I.8. Effets du partage de l'hôte et des souches génétiques sur l'agressivité des rencontres entre femelles chez le parasitoïde grégaire <i>Goniozus legneri</i>	34
Figure I.9. Structure chimique de la testostérone, de l'hormone juvénile III, de l'ecdysone et de la 20-hydroxy-ecdysone.....	35
Figure I.10. Représentation graphique d'un modèle à 3 niveaux des taux d'androgènes chez les oiseaux mâles	37
Figure I.11. Voie de biosynthèse de la JH.....	39
Figure I.12. Voie de biosynthèse des ecdystéroïdes.....	39
Figure I.13. Effet de la charge en œufs de la femelle focale sur son agressivité en termes de taux d'attaques	44

Chapitre 2 - Description du système tritrophique

Figure 2.1. <i>Vigna unguiculata</i> (Walp).....	46
Figure 2.2. Greniers traditionnels de stockage du niébé au Niger.....	48
Figure 2.3. <i>Callosobruchus maculatus</i> adultes.....	48
Figure 2.4. Graine de Niébé infestée par <i>C. maculatus</i>	49
Figure 2.5. Les stades larvaires, pré-nymphaux, nymphaux et imaginal de <i>C. maculatus</i>	49
Figure 2.6. Femelle adulte d' <i>Eupelmus vuilleti</i>	51
Figure 2.7. Comparaison des coûts métaboliques supplémentaires dû aux activités de forage par rapport à la production de CO ₂ de référence chez les femelles d' <i>E. vuilleti</i>	52
Figure 2.8. Œuf d' <i>E. vuilleti</i> sur une larve de <i>C. maculatus</i>	53
Figure 2.9. Quantité d'ecdysone dans les ovaires des femelles <i>E. vuilleti</i> immédiatement, 4h, 24h, ou 48h après un contact avec un hôte	54

Figure 2.I0. Deux femelles d' <i>E. vuilleti</i> se faisant face sur une graine de Niébé parasitée par un hôte <i>C. maculatus</i>	55
Figure 2.II. Cage d'élevage des parasitoïdes.....	56
Figure 2.I2. Fabrication d'un système artificiel mimant une graine de niébé à partir d'une gélule pharmaceutique.....	57

Partie II - Les facteurs influençant les comportements lors des conflits

Chapitre 3 - Effet de la valeur de l'hôte

Figure 3.I. Masse corporelle des femelles d' <i>E. vuilleti</i> à leur émergence d'une larve L4 ou d'une nymphe de <i>C. maculatus</i>	67
Figure 3.2. Nombre relatif d'attaques et probabilité de gagner un combat des femelles focales ayant différentes pré-expériences de ponte lorsqu'elles se battent pour une larve L4 ou une nymphe de <i>C. maculatus</i>	68

Chapitre 4 - Effet de l'apparentement génétique

Figure 4.I. Design expérimental qui nous a permis d'explorer le rôle de l'apparentement génétique et de la familiarité entre femelles dans l'agressivité et la résolution des conflits pour l'accès à un hôte.....	79
Figure 4.2. Probabilité qu'un combat entre femelles soit agressif ou résolu en fonction de leur niveau d'apparentement génétique et de familiarité.	81
Figure 4.3. Nombre total de comportement agressifs observés durant un combat en fonction de la différence absolue de charge en oeufs initiale entre femelles d'une même dyade.....	82

Partie III - Le rôle des hormones

Chapitre 5 - Revue de la littérature

Figure 5.I. Vendiagramme des actions et des fonctions de la JH et des androgènes.....	90
--	----

Chapitre 6 - Rôle de l'hormone juvénile

Figure 6.I. Arène expérimentale	112
Figure 6.2. Nombre d'oeufs matures chez des femelles injectées avec différentes doses de JHIII.....	114
Figure 6.3. Nombre d'attaques exprimés par des femelles injectées avec seulement de l'acétone ou avec de la JHIII lorsqu'elles se battent pour une larve L4 de <i>C. maculatus</i>	115
Figure 6.4. Nombre moyen d'oeufs matures chez les femelles avant un combat et leur statut gagnante/perdante à l'issue du combat.....	116

Chapitre 7 - Rôle des ecdystéroïdes

Figure 7.1. Statut de gagnante/perdante des femelles focales après la résolution des conflits en fonction du nombre relatif moyen d'attaques des femelles focales et de la différence relative moyenne des taux d'ESH entre femelles	127
Figure 7.2. Nombre d'oeufs mature des femelles injectées avec différentes quantités d'ecdysone	128
Figure 7.3. Taux d'ESH chez des femelles injectées avec différentes quantités d'ecdysone	129
Figure 7.4. Probabilité de gagner des femelles focales en fonction du type d'injection reçue avant un combat	130

Partie IV

Discussion générale et perspectives

Figure 8.1. Relations attendues entre la durée des combats et la RV subjective des combattants	142
Figure 8.2. Schéma de l'interaction entre les hormones gonadotropes (JH et 20HE) et les amines biogènes (DA et OA) chez des femelles matures du genre <i>Drosophila</i>	147
Figure 8.3. Carte heuristique montrant les interactions entre les différents facteurs qui influencent la résolution d'un conflit chez les insectes	152

Partie I

Introduction générale

Chapitre I : Etat de l'art

La compétition intraspécifique pour l'accès à des ressources indivisibles est un phénomène répandu au sein du règne animal. Au cours d'un conflit, les individus peuvent interagir directement les uns avec les autres en exprimant des comportements agonistiques. Dans ce premier chapitre, nous passons en revue la littérature décrivant les différents facteurs impliqués dans la modification des stratégies comportementales adoptées par les animaux lors de combat. Nous prenons notamment l'exemple des conflits entre parasitoïdes dont notre modèle d'étude fait partie.

Les modèles de la théorie des jeux prédisent que l'asymétrie qui existe entre les compétiteurs en termes de capacité à se battre, de valeur de la ressource ou de statut de propriétaire (propriétaire/intrus) est susceptible d'influencer l'issue des combats entre deux individus. Nous détaillons l'effet relatif de chaque asymétrie ainsi que les différents modes d'évaluation susceptibles d'être utilisés par les individus pour évaluer ces dernières lors d'un combat.

Par ailleurs, en accord avec la théorie de la sélection de parentèle, le concept de fitness inclusive permet de comprendre pourquoi il est souvent avantageux pour un individu d'être moins agressif et d'éviter une compétition avec des congénères qui lui sont génétiquement proches. Nous décrivons notamment les mécanismes classiquement impliqués dans la reconnaissance et la discrimination de parentèle, et les pressions de sélection qui pourraient expliquer pourquoi la discrimination de parentèle n'est pas observée chez certaines espèces.

Pour finir, les hormones peuvent médier le comportement des animaux en fonction de leur environnement. Puisqu'elles sont déjà connues pour réguler de nombreux paramètres de la biologie des insectes, l'hormone juvénile et les écdystéroïdes sont de bonnes candidates pour étudier comment le système endocrinien des insectes module l'agressivité des individus lors de combats pour l'accès à une ressource. Nous synthétisons ici les connaissances quant à leur action sur les traits d'histoires de vie et les comportements non-agressifs des individus.

"How much can you know about yourself if you've never been in a fight?"

Tyler Durden, Fight Club

Chapitre I

Etat de l'art

Un monde conflictuel

La compétition intraspécifique en bref

Puisqu'ils ont des besoins similaires pour survivre et se reproduire, les individus d'une même espèce cherchent et exploitent les mêmes ressources (e.g., un partenaire sexuel, une source de nourriture ou un territoire), ce qui conduit à une compétition pour acquérir certaines d'entre elles. La compétition intraspécifique représente alors une pression de sélection importante qui peut agir sur les stratégies comportementales individuelles. Classiquement, elle se divise en deux niveaux (Parker, 1962) :

- ❖ La **compétition par exploitation**, qui correspond à l'exploitation d'une ressource par un individu, réduisant sa disponibilité pour les autres compétiteurs. Elle se produit sans interaction directe entre les individus (Krebs & Davies, 1993).
- ❖ La **compétition par interférence**, qui correspond à l'interaction directe des individus lors de conflits pour l'accès à une ressource (Sutherland, 1996 ; Krebs & Davies, 1993), et permet au compétiteurs vainqueurs de ces conflits de monopoliser cette ressource.

Si la compétition par exploitation favoriserait les individus capables de mieux localiser, sélectionner et exploiter les ressources, la compétition par interférence favoriserait, quant à elle, les individus capables de mieux défendre les ressources ou au contraire d'éviter les conflits. Dans ce cadre, un des mécanismes les plus communs de défense d'une ressource est d'empêcher les individus indésirables de s'en approcher (Godfray, 1994). Bien que les conflits entre les animaux puissent s'exprimer par une simple démonstration non violente (i.e., sans contact physique ; Davies, 1978), dans de nombreux taxa, les individus entrent en compétition via des comportements agonistiques¹ qui entraînent dans certains cas extrêmes la mort de l'un des adversaires (Enquist & Leimar, 1990). Les animaux se battent ainsi pour obtenir de la nourriture (Chapman & Kramer, 1996), un partenaire sexuel (Jennings et al., 2004 ; Hack, 1997), un territoire (Huntingford & Turner, 1987 ; Tobias, 1997), un site de ponte (Lindström, 1992 ; Moore & Greeff, 2003) ou encore un abri (Elwood et al., 2006). La plupart de ces conflits se produisent entre mâles, mais ils sont également observés entre femelles, entre juvéniles, entre et au sein de groupes sociaux (Riechert, 1998). Les conflits pour l'accès à une ressource donnée sont un phénomène répandu au sein du règne animal, et ont donc fait l'objet d'une attention particulière de la part des chercheurs en écologie comportementale (Kokko, 2013).

¹ Terme regroupant à la fois les comportements agressifs (intimidation et/ou attaque) et défensifs

Nous nous limiterons ici à l'étude de la compétition intraspécifique par interférence en décrivant les facteurs influençant les stratégies comportementales utilisées par les individus lors de conflits pour l'accès à une ressource.

Des conflits et des parasitoïdes

Au cours du temps, les insectes parasitoïdes se sont révélés être des modèles biologiques privilégiés par de nombreux chercheurs en écologie comportementale. En effet, les parasitoïdes sont des organismes dont le développement se fait obligatoirement aux dépens d'un hôte (voir **encart I.I**). Les juvéniles dépendent entièrement de cet hôte car ils se nourrissent exclusivement de ses tissus jusqu'à leur émergence (Godfray, 1994). De ce fait, le succès reproducteur des parasitoïdes dépend fortement de la qualité de l'hôte et, par conséquent, des stratégies de recherche, d'acquisition, d'exploitation et de défense des femelles (Godfray, 1994 ; van Alphen et al., 2003 ; Todoroki & Numata, 2017). Chez les parasitoïdes, le lien entre la fitness des femelles et leurs stratégies comportementales est donc direct (Godfray, 1994), ce qui permet d'étudier les pressions de sélection qui jouent sur la compétition intraspécifique et sur l'optimisation des stratégies comportementales des individus.

Quand plusieurs femelles parasitoïdes sont amenées à exploiter simultanément le même patch, elles peuvent interférer les unes avec les autres, plus ou moins directement. D'une part, les interactions indirectes se traduisent notamment par une modification des modes d'exploitation des hôtes (fréquence du superparasitisme et allocation des sexes) par rapport à une situation où la femelle est seule (Visser et al., 1990 ; Visser et al., 1992). En cas de superparasitisme (**encart I.I**), une compétition dite « intrinsèque » intervient alors au stade larvaire (voir Harvey et al., 2013 pour une revue de la littérature). Elle se caractérise notamment par une élimination des larves surnuméraires par combat larvaire (Fisher, 1961 ; Salt, 1961 ; Chow & Mackauer, 1984) ou par une suppression physiologique (Mackauer, 1990 ; Wai & Fujii, 1990). La compétition intrinsèque est particulièrement déterminante pour les parasitoïdes solitaires puisqu'une seule larve peut se développer par hôte (Vinson & Iwantsch, 1980). D'autre part, les interactions directes entre femelles adultes se traduisent par l'expression de comportements agonistiques dans le but de défendre l'hôte ou le patch exploité (Hassell, 1971 ; Griffiths & Godfray, 1988 ; Hardy & Blackburn, 1991 ; Field et al., 1998). Puisque l'issue de ces interactions influence directement leur fitness (Petersen & Hardy, 1996 ; Batchelor et al., 2005), il n'est pas surprenant que des combats entre femelles parasitoïdes pour l'accès à l'hôte aient déjà été observées chez différentes espèces de parasitoïdes (Hughes et al., 1994 ; Petersen & Hardy, 1996 ; Field & Calbert, 1999 ; Humphries et al., 2006 ; Goubault et al., 2007a, 2007b ; Mohamad et al., 2013). Néanmoins, si l'effet de la compétition par exploitation a été largement décrit chez les parasitoïdes, les différents facteurs qui modulent les stratégies comportementales des femelles lors des conflits pour l'accès à un hôte n'ont été, jusqu'à présent, que nettement plus rarement étudiés.

Classiquement, l'intensité (agressivité) et la résolution des conflits entre animaux pour l'accès à une ressource indivisible sont influencés par i) leur capacité à se battre, ii) la valeur de cette ressource, que ce soit sa qualité intrinsèque ou la valeur que les individus vont lui accorder, iii) l'apparement génétique entre les adversaires et, iv) leur réponse physiologique (i.e., la médiation hormonale). Nous développerons donc ces différents facteurs au cours des prochaines sections de ce chapitre, en précisant dans chaque cas ce que nous connaissons chez les parasitoïdes.

Encart I.I. Le mode de vie parasitoïde

Les parasitoïdes sont des organismes qui se développent au dépens d'un autre organisme dont il se nourrit pendant leurs stades juvéniles : l'hôte (**Fig. I.I**). Ils en tirent alors leur subsistance jusqu'à leur émergence au stade adulte et le tuent comme résultat direct ou indirect de leur développement (Eggleton & Gaston, 1990). Très commun chez les insectes (10% des insectes connus ; Heraty, 2009), la plupart des parasitoïdes sont des hyménoptères (75% des parasitoïdes ; Boivin, 1996), les autres étant principalement des diptères et des coléoptères (Godfray, 1994). Les parasitoïdes se caractérisent par leur mode de vie arborant des formes riches et variées :

Ils peuvent se développer à l'extérieur (ectoparasitoïdes) ou à l'intérieur (endoparasitoïdes) de l'hôte.

Ils peuvent ne s'attaquer qu'à un nombre limité d'espèces d'hôtes (parasitoïdes spécialistes), ou s'attaquer à de nombreuses espèces de taxa variés (parasitoïdes généralistes).

Ils peuvent parasiter tous les stades de développement des insectes (œufs, larves, nymphes et adultes ; Godfray, 1994), même si le degré de spécificité (parasitoïdes monophages, oligophages ou polyphages) varie entre les espèces.

Ils peuvent parasiter soit un hôte phytophage (parasitoïdes primaires), soit un hôte lui-même parasitoïde (parasitoïdes secondaires ou hyperparasitoïdes).

Ils peuvent se développer de façon solitaire (un seul individu peut se développer par hôte) ou de façon grégaire (plusieurs individus peuvent se développer par hôte). Parfois, un hôte est parasité par un nombre de parasitoïdes supérieur à celui dont il peut assurer le développement (Doutt, 1964). Les œufs peuvent être soit pondus par la même femelle (self-superparasitisme), soit par une femelle de la même espèce (superparasitisme), soit par une femelle d'une autre espèce (multiparasitisme ; Smith, 1916). Dans tous les cas, la suppression des éventuels individus surnuméraires peut prendre la forme de combats larvaires ou de suppression physiologique (Fisher, 1961 ; Salt, 1961).

Ils peuvent soit maintenir leur hôte en vie pendant une grande partie de leur développement (parasitoïdes koïnobiontes ; Askew & Shaw, 1986), soit tuer ou paralyser leur hôte dès la ponte en entraînant le ralentissement ou l'arrêt de son développement (parasitoïdes idiobiontes).



Figure I.I. Chenille d'*Achatia distincta* (Lepidoptera : Noctuidae) parasitée par un ectoparasitoïde grégaire, *Eulophus anomocerus* Crawford (Hymenoptera : Eulophidae). Les larves de la guêpe parasitoïde se distinguent par une vive couleur verte. (Source : <https://www.performance-vision.com/parasitoids/index.htm>)

Quand les asymétries entrent en jeu

Bien que les premiers travaux étudiant les stratégies comportementales des individus lors de combats partent du principe que les adversaires sont strictement identiques (Maynard Smith & Price, 1973), force est de constater que les conflits entre les animaux sont rarement symétriques (Parker, 2013). En effet, les rivaux n'ont souvent pas les mêmes aptitudes à la compétition ; l'asymétrie qui en résulte peut impacter les interactions entre les opposants et l'issue des combats (Maynard Smith & Parker, 1976). Les modèles de la théorie des jeux ont alors permis d'identifier les principales asymétries qui jouent un rôle sur l'agressivité et sur l'issue de tels conflits (Maynard Smith, 1982), à savoir les capacités des individus à se battre pour une ressource, la valeur de cette ressource et le statut de propriétaire (Maynard Smith, 1974 ; Maynard Smith & Parker, 1976 ; Leimar & Enquist, 1984).

Asymétrie dans les capacités à se battre

Un premier facteur jouant un rôle important dans les conflits est l'asymétrie existante entre les compétiteurs en termes de capacité à obtenir et à conserver l'accès à une ressource (i.e., le potentiel de détention d'une ressource, de l'anglais « Resource Holding Potential », abrégé « RHP » ; Maynard Smith, 1974 ; Parker, 1974 ; Hammerstein, 1981). Le RHP est généralement lié à des facteurs intrinsèques à l'animal telles que la taille ou sa masse corporelle (Hack, 1997 ; Riechert, 1998 ; Archer & Thanzami, 2007), la taille de son armement (Huntingford & Turner, 1987) ou son statut nutritionnel (Andersson & Iwasa, 1996). Par exemple, les individus plus imposants (Suzuki, 2013), avec une arme plus grande (Murai & Blackwell, 2005 ; Moore et al., 2008) ou avec de meilleures réserves de graisses (Marden & Waage, 1990) gagnent plus fréquemment les combats. Toute chose étant égale par ailleurs, le compétiteur ayant le RHP le plus important (i.e., possédant des traits supérieurs à celui de l'adversaire) est généralement plus agressif et a plus de chance de gagner l'accès à la ressource (Parker, 1974 ; Maynard Smith, 1982 ; Elias et al., 2008 ; Arnott & Elwood, 2009).

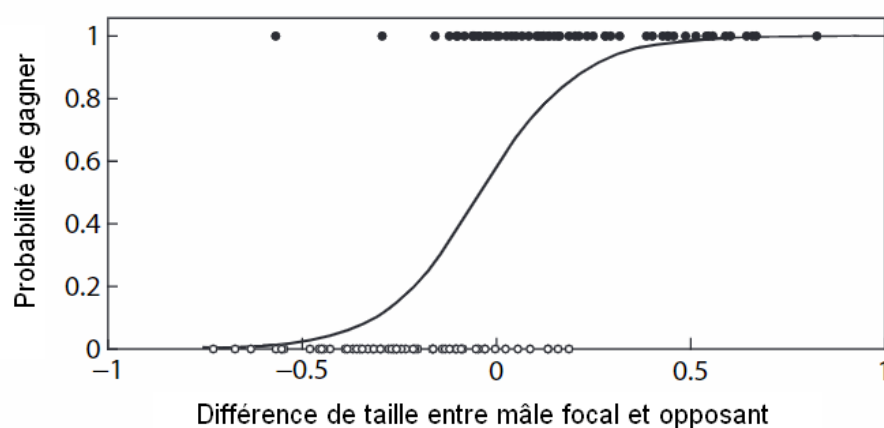


Figure I.2. Probabilité de gagner un combat en fonction de la différence de taille corporelle (mm) entre les mâles chez *Melittobia australica*. ● : combats au cours desquels les mâles focaux ont gagné ; ○ : combats au cours desquels les mâles focaux ont perdu (modifié d'après Reece et al., 2007).

L’effet de l’asymétrie dans le RHP au cours de conflits a déjà été montré chez les parasitoïdes. Par exemple, les compétiteurs plus grands et/ou plus lourds (i.e., avec un RHP plus élevé) sont avantagés durant les combats (Petersen & Hardy, 1996 ; Stokkebo & Hardy, 2000 ; Goubault et al., 2007a ; Reece et al., 2007 ; **Fig. I.2**). Cependant, des facteurs autres que la taille corporelle ou un caractère morphologique particulier peuvent contribuer au RHP des parasitoïdes. Ainsi, chez *Melittobia australica* (Abe et al., 2003) et *M. acasta* (Innocent et al., 2007), les mâles qui se développent plus vite, émergent en premier et tuent généralement les mâles qui émergent plus tardivement.

Asymétrie dans la valeur de la ressource

L’asymétrie entre les compétiteurs dans la valeur d’une ressource joue également un grand rôle dans l’intensité et dans l’issue du combat (Arnott & Elwood, 2008). La valeur de la ressource (RV) peut premièrement dépendre de propriétés intrinsèques à cette ressource (RV « objective ») qui peuvent être détectées par les individus et qui leur procurent un certain bénéfice en termes de fitness (Gherardi, 2006 ; Goubault et al., 2007a). Par exemple, un aliment de grande taille ou à haute valeur nutritive représente une ressource procurant un avantage considérable en termes de fitness (Chancellor & Isbell, 2008) pour laquelle il devient avantageux de se battre. L’agressivité lors des conflits pour une telle ressource peut alors être élevée (Stockermans & Hardy, 2013). Deuxièmement, un statut physiologique ou une expérience différente de la disponibilité d’une ressource peuvent également modifier la valeur que l’individu place dans une ressource donnée, amenant les individus à prendre plus de risques, à se battre plus fortement et à dépenser plus d’énergie pour l’acquérir ou la défendre. La RV « subjective » (Enquist & Leimar, 1987) fait ainsi référence à la valeur que chaque individu attribue à la ressource, indépendamment de sa valeur objective. Par exemple, les individus privés d’une ressource particulière (e.g., un partenaire sexuel ou de la nourriture) accordent une plus grande valeur à cette ressource que s’ils y avaient récemment eu accès. Ils devraient être plus motivés à l’acquérir et donc se battre davantage, avec une probabilité plus élevée de gagner les conflits (Brown et al., 2006, 2007). Classiquement, l’individu ayant une RV plus élevée est plus agressif et remporte les conflits plus souvent (Kokko, 2013).

Chez les parasitoïdes, l’agressivité des femelles et l’issue des combats peuvent être aussi influencées par différents facteurs modifiant la valeur objective ou subjective de l’hôte. Par exemple, les femelles défendant des hôtes de plus grande taille ou des juvéniles plus vulnérables (i.e., avec une RV objective plus élevée) ont une plus grande probabilité de gagner les combats (Humphries et al., 2006 ; Goubault et al., 2007b). Par ailleurs, les individus avec une plus grande charge en œufs sont généralement avantagés lors des combats; ces femelles valoriseraient davantage l’hôte (i.e., une RV subjective plus élevée) car une charge en œufs plus élevée leur permettrait de pondre plus rapidement (Hughes et al., 1994 ; Stokkebo & Hardy, 2000 ; Mohamad et al., 2013 ; **Fig. I.3** ; mais voir Goubault et al., 2007a). De plus, la valeur de l’hôte augmente lorsque les femelles proviennent d’un environnement à faible densité d’hôtes (Enquist & Leimar, 1987). Les femelles provenant d’un tel habitat sont généralement plus agressives et gagnent plus souvent les conflits (Hughes et al., 1994 ; Mohamad et al., 2013 ; **Fig. I.3** ; mais voir Goubault et al., 2007a).

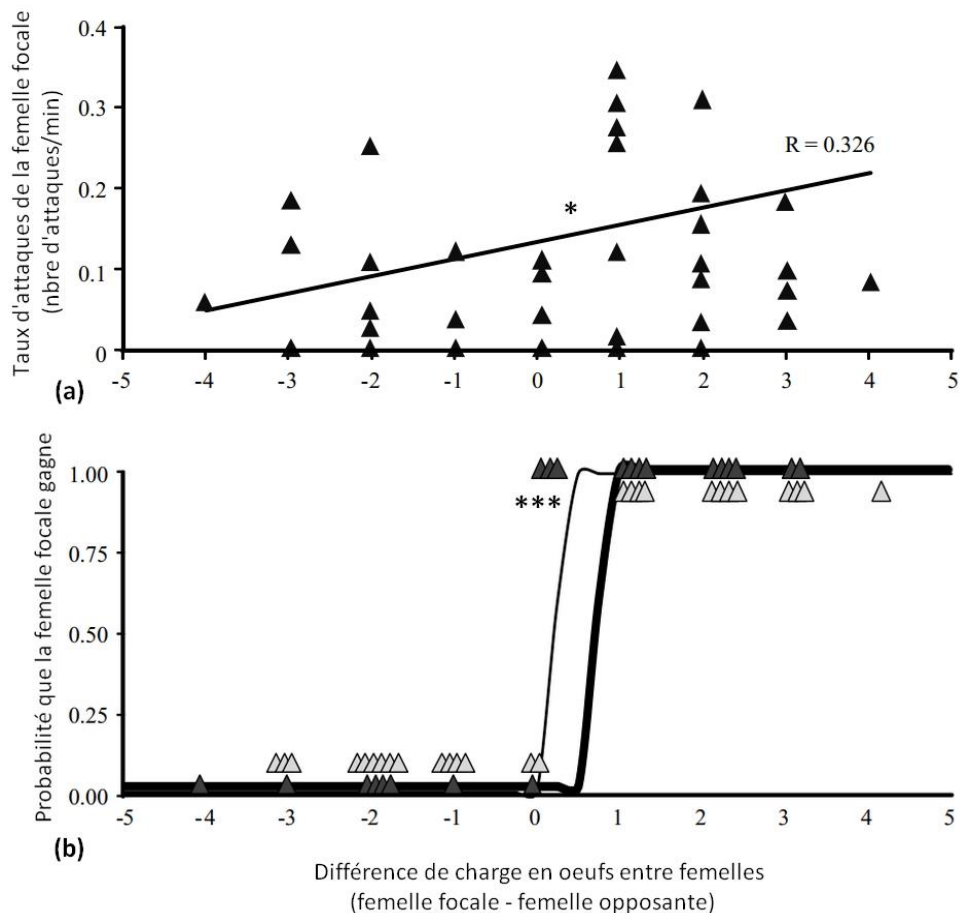


Figure 1.3. Effet de différentes composantes de la valeur subjective de la ressource sur les combats entre femelles chez le parasitoïde solitaire *Dinarmus basalis* (modifié à partir de Mohamad et al., 2013). a) Effet de la différence de charge en œufs entre les femelles sur l'agressivité de la femelle focale, mesurée en termes de taux d'attaque. b) Effet de la qualité de l'habitat précédent (habitat pauvre : triangles gris foncé ; habitat riche : triangles gris clair) et de la différence de charge en œufs entre femelles sur l'issue des combats (1 = victoire, 0 = défaite). Les différences de charge en œufs positives indiquent que la femelle focale avait un plus grand nombre d'œufs matures que la femelle adverse. L'inverse a été observé pour les différences négatives. Les points de données ont été déplacés verticalement de leurs positions binaires pour indiquer le nombre d'observations. * : $P < 0.05$; *** : $P < 0.001$.

Même si les précédentes études se sont penchées sur un nombre variés de facteurs agissant sur la RV subjective, peu d'entre elles ont testé simultanément l'effet de la RV objective (e.g., Gherardi, 2006 ; Humphries et al., 2006). Dans ce cadre, Stockermans & Hardy (2013) ont par exemple montré chez la guêpe parasitoïde *Goniozus legneri* que la taille de l'hôte (composante objective) et l'âge des femelles (composante subjective) affectent de manière additive l'intensité des combats pour l'accès à un hôte. A l'heure actuelle, puisqu'il semble que les effets des deux composantes de la RV sont seulement additifs, la RV total est simplement considérée comme la somme de ses parties, suggérant qu'il serait facile de formuler des modèles permettant de prédire l'influence de la RV sur l'agressivité des individus et l'issue des combats (Stockermans & Hardy, 2013). Compte tenu du faible nombre de données empiriques sur le sujet, cette conclusion paraît à l'heure actuelle un peu rapide et mériterait d'être consolidée. Pour établir des patterns généraux, il est au préalable nécessaire d'explorer plus largement les interactions entre les différents facteurs agissant sur la RV objective et subjective et leurs effets sur le comportement des animaux lors d'un conflit.

Asymétrie dans le statut de propriétaire

Un troisième facteur influençant les comportements et l'issue des combats lors de conflits est l'asymétrie au niveau du statut de propriétaire. Dans la nature, il est fréquent qu'un individu soit en présence d'une ressource avant un autre. Un combat peut alors avoir lieu entre un animal qui possède la ressource – le propriétaire (ou résident) – et un nouvel arrivant (l'intrus ; Maynard Smith & Parker, 1976 ; Maynard Smith, 1982 ; Leimar & Enquist, 1984). Ce sont généralement les individus propriétaires qui remportent les combats (Davies, 1978 ; Enquist & Leimar, 1987 ; Kokko et al., 2006). Par ailleurs, plus la période de résidence de l'individu propriétaire est longue (i.e., avec une forte asymétrie propriétaire/intrus), moins les interactions sont violentes et prolongées (Maynard Smith & Parker, 1976 ; Arnott & Elwood, 2008 ; Takeuchi & Honda, 2009).

Le statut de propriétaire permet également de prédire l'issue des combats chez les parasitoïdes. Les femelles propriétaires remportent plus fréquemment les combats (Humphries et al., 2006 ; **Fig. I.4**), même si les intruses peuvent gagner face aux résidentes dans certaines situations particulières (Goubault et al., 2006 ; Bentley et al., 2009). Chez *Dinarmus basalis*, par exemple, les femelles ne gagnent sur la base de leur statut de propriétaire que lorsque l'intervalle de temps entre son arrivée et celle de l'intruse est important (Mohamad et al., 2013).

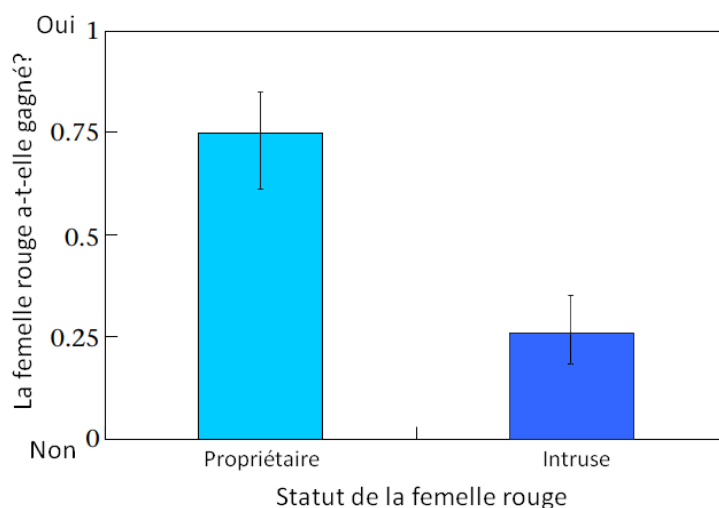


Figure I.4. Probabilité (moyenne $\pm$ S.E.) que des femelles marquées en rouge gagnent un combat en fonction de leur statut de résidence sur leur hôte (propriétaire vs intruse) chez la guêpe parasitoïde *Goniozus nephantidis* (modifié à partir de Humphries et al., 2006).

Néanmoins, tester uniquement l'effet du statut de propriétaire lors d'un conflit s'avère souvent compliqué car l'avantage des propriétaires sur les intrus est souvent lié à une autre forme d'asymétrie. Ainsi un résident peut simplement être mieux placé pour défendre la ressource ou peut s'enfuir avec, ce qui correspondrait à un meilleur RHP (Parker, 1974 ; Hamilton & Busse, 1982 ; Leimar & Enquist, 1984). Le propriétaire peut également accéder à plus d'informations quant à la qualité de la ressource et donc être plus motivé que l'intrus à la protéger, ce qui s'apparenterait à d'une RV subjective plus importante (Enquist & Leimar, 1987 ; Hack et al., 1997). Il devrait donc escalader rapidement le conflit, tandis que l'intrus pour qui la valeur de la ressource reste stable ou réduite devraient rapidement abandonner la ressource.

Une issue paradoxale ?

En situation de compétition asymétrique, les conflits peuvent parfois avoir une issue qualifiée de « paradoxale » (Maynard Smith & Parker, 1976 ; Kokko, 2013). En effet, en cas d'asymétrie dans le RHP ou la RV, les individus avec un plus fort RHP ou une plus forte RV gagnent généralement. Cependant, il arrive que deux asymétries soient concomitantes et qu'elles aient des effets antagonistes. C'est le cas, par exemple, si les individus les plus petits sont aussi les plus affamés. Une forte RV subjective peut alors aider des individus à contrebalancer un RHP plus faible (Ewald, 1985 ; Verrell, 1986 ; Gherardi, 2006). Cela peut également apparaître si les individus sont mal informés sur l'asymétrie (Parker, 1984) : soit parce qu'ils ne perçoivent pas d'information à ce sujet, soit parce qu'ils utilisent un mauvais indicateur.

Comment les animaux évaluent une asymétrie ?

Puisque que se battre pour une ressource limitée peut être coûteux, que ce soit en termes de blessures physiques pouvant entraîner la mort (Innocent et al., 2011) et/ou une vigilance moindre augmentant le risque de prédation (Díaz-Uriarte, 1999), les individus utilisent généralement des indices permettant d'évaluer l'asymétrie avec un adversaire et de résoudre ainsi les conflits avec le moins de violence (et donc de risque) possible (Maynard Smith & Parker, 1976).

Différents modèles prédisent ainsi la manière dont les informations prises sur le RHP influencent les combats ; ils ne diffèrent pas dans la prédiction des gagnants mais dans le moment et la manière dont la décision d'abandonner le conflit est prise (Prenter et al., 2006). Deux grands modèles d'évaluation sont classiquement décrits :

- ❖ Les modèles de « **self-assessment** » : ici chaque compétiteur a uniquement des informations au sujet de ses propres capacités et ne collecte pas d'information sur son opposant (Arnott & Elwood, 2009). Les modèles de self-assessment peuvent être subdivisés en guerre d'usure énergétique (de l'anglais « energetic wars of attrition » : « EWOA » ; Payne & Pagel 1997) et en « cumulative assessment » (« CAM » ; Payne, 1998). Dans les deux cas, les coûts du conflit s'accumulent au cours du temps sur la base de ce qu'exprime l'individu, de sorte que les compétiteurs les plus faibles ont tendance à atteindre leurs limites et à abandonner les premiers. Cependant, le modèle de cumulative assessment prédit également que les individus peuvent infliger à leur adversaire des dommages qui sont proportionnels à leur RHP, de sorte que la décision d'abandonner est, dans ce cas, influencée par le RHP de chaque individu : l'individu ayant le RHP le plus faible (le perdant) subira plus de dommages et atteindra ses limites plus rapidement.
- ❖ Les modèles de « **mutual assessment** » : ici les deux compétiteurs peuvent estimer le RHP de leur opposant en fonction du leur. L'avantage est que l'adversaire avec le RHP le plus faible peut rapidement quitter le conflit et ainsi limiter ses coûts en termes de temps, d'énergie et de risque de blessures lié à un combat qu'il perdrait dans tous les cas. Néanmoins, si l'asymétrie est faible, plus d'informations sont requises et le conflit escalade jusqu'à obtenir des informations plus fiables sur le RHP de l'adversaire (Enquist et al., 1990).

Dans le cas des modèles de self-assessment, les combattants subissent obligatoirement des coûts (jusqu’à un certain seuil). Ces stratégies sont donc clairement inférieures au mutual assessment. Cependant, baser ses décisions sur ses propres capacités (self-assessment) pour estimer la durée d’un combat peut être un moyen économique de déterminer le degré d’escalade du conflit et, *a fortiori*, le gagnant de ce conflit, tout en évitant les coûts associés à l’évaluation de l’opposant, qui nécessite d’ailleurs une certaine capacité cognitive et sensorielle (Taylor & Elwood, 2003 ; Elias et al., 2008). En outre, les coûts potentiels liés à cette évaluation peuvent être importants si les indices perçus ne sont pas des signaux honnêtes de la capacité réelle de l’adversaire (Elias et al., 2008 ; Briffa et al., 2013 ; Kokko et al., 2013).

Dans la littérature, la plupart des recherches visant à vérifier l’applicabilité de ces modèles à un large éventail de taxa s’est concentrée sur les relations entre les traits liés au RHP et la durée des combats (Taylor & Elwood, 2003 ; Arnott & Elwood, 2009 ; Elwood & Arnott, 2012 ; Briffa et al., 2013). Ainsi, lorsque les combats sont déterminés par le RHP des perdants seulement (i.e., self-assessment), la durée d’un combat augmente avec le RHP du perdant et celui du gagnant (mais voir Taylor & Elwood, 2003 pour le cas du CAM). Au contraire, lorsque les combats sont déterminés par du mutual assessment, la durée du combat devrait également augmenter avec le RHP du perdant, mais devrait diminuer avec celui du gagnant (Fig. I.5).

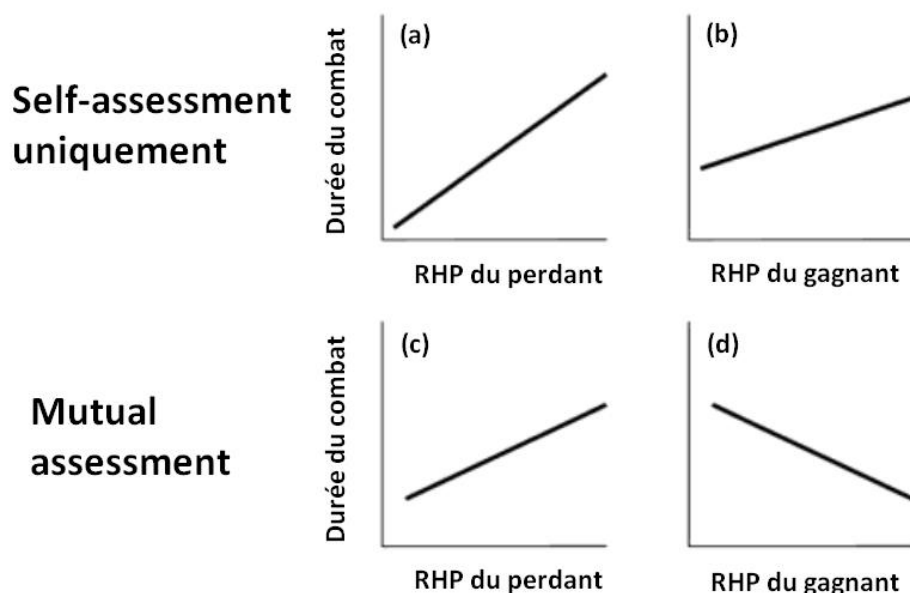


Figure I.5. Relations attendues entre la durée des combats et le RHP (modifié à partir de Briffa et al., 2013). Lorsque les combats sont déterminés par le RHP des perdants seulement, la durée d’un combat augmente avec le RHP du perdant (a) et également avec le RHP du gagnant (b), même si moins nettement. Lorsque les combats sont véritablement déterminés par du mutual assessment, la relation entre la durée d’un combat et le RHP du perdant devrait être similaire (c), mais le contraire est attendu en ce qui concerne le RHP du gagnant (d). Le marqueur clé du mutual assessment devrait donc être une relation négative entre la durée d’un combat et le RHP du gagnant contrairement à une faible relation positive attendues dans du self-assessment.

Si de nombreuses études empiriques ont été menées sur le sujet, identifier le type de stratégie qui opère dans un système donné se révèle néanmoins difficile (Elwood & Arnott, 2012 ; Palaoro & Briffa, 2017 ; Rink et al., 2019). Ceci explique probablement pourquoi les études démontrant clairement le type d’assessment adopté par les parasitoïdes lors des conflits est rare (voir **encart I.2**).

Encart I.2. Le self-assessment chez *Nasonia vitripennis*

Bien que de précédentes études aient décrit le rôle de l'asymétrie dans le RHP durant les combats chez de nombreuses espèces de parasitoïdes, la détermination du type d'évaluation utilisé par les compétiteurs au cours de ces combats reste rare.

En observant des mâles se battre pour l'accès à des hôtes (d'où peuvent émerger des femelles) chez l'endoparasitoïde grégaire *Nasonia vitripennis*, Tsai et al. (2014) ont testé les prédictions établies par Arnott & Elwood (2009) sur la relation entre la taille des compétiteurs et la durée des combats (Fig. I.6a, b, c).

Leurs résultats suggèrent que les mâles de *N. vitripennis* se basent sur du pur self-assessment lors des combats : i) la durée des combats entre mâles de taille différentes est liée positivement à la taille des perdants (Fig. I.6d) mais n'est pas corrélée à la taille des gagnants (Fig. I.6e) et ii) la durée des combats entre mâles de même taille est positivement corrélée à la taille moyenne de la dyade (Fig. I.6f).

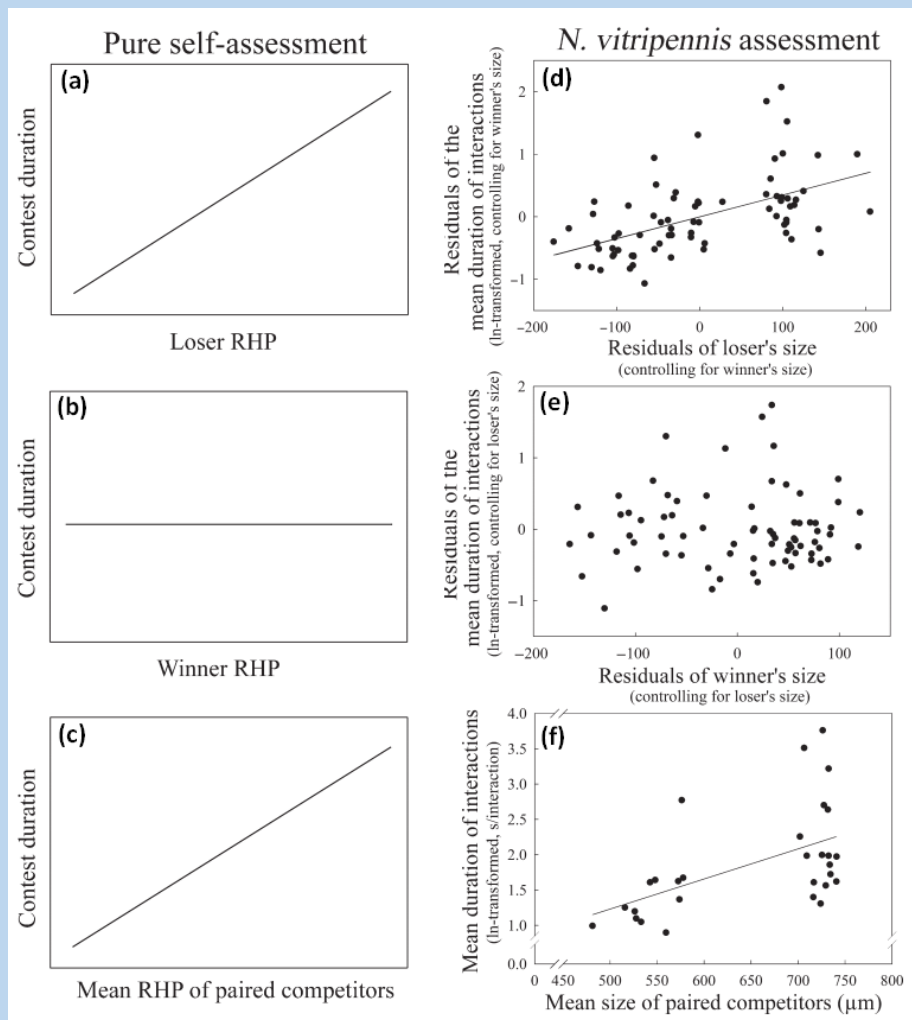


Figure I.6. Relation entre la durée d'un combat et le potentiel de détention d'une ressource (RHP) du perdant (a, d), le RHP du gagnant (b, e) ou le RHP moyen d'une dyade assortie par le RHP (c, f). Les graphiques a, b et c montrent les prédictions d'un modèle de pur self-assessment. Les graphiques d, e et f montrent les relations entre la durée du combat et la taille des compétiteurs (longueur du tibia postérieur) chez les mâles de *N. vitripennis* (modifié à partir de Tsai et al., 2014).

Une affaire de famille : la sélection de parentèle

Un peu de théorie

En plus de l'effet de différentes asymétries, les conflits entre animaux peuvent être affectés par le degré d'apparentement génétique entre les compétiteurs (West et al., 2002). La théorie de la sélection de parentèle développée en 1964 par W.D. Hamilton propose en effet qu'un trait, qui n'apporte pas d'avantage direct en termes de fitness à un individu qui l'exprime, peut être sélectionné s'il améliore la fitness des individus porteurs des mêmes gènes que le protagoniste (« fitness inclusive » ; Hamilton, 1964). La règle d'Hamilton (Hamilton, 1964, 1979 ; Gardner et al., 2007), prédit qu'un comportement altruiste peut évoluer quand l'apparentement génétique (r) et les bénéfices (B) pour le bénéficiaire, sont plus importants que les coûts en termes de fitness (c) pour l'individu altruiste, tel que :

$$r \cdot B > c$$

Dans le contexte des conflits, il serait avantageux pour un individu d'être moins agressif (i.e., plus altruiste) envers les congénères qui lui sont génétiquement proches (Griffin & West, 2002) car cela maximiserait sa fitness inclusive (West et al., 2001). La théorie prédit ainsi que la compétition devrait être moins agressive entre individus apparentés (Hamilton, 1979 ; Reinhold, 2003). Plus précisément, les individus devraient être plus agressifs envers un congénère éloigné génétiquement car tout préjudice causé à son encontre n'induirait pas de coût indirect sur sa fitness, et pourrait potentiellement réduire une compétition existante entre ce dernier et un individu plus apparenté. Dans ce cadre, certains auteurs vont même jusqu'à postuler qu'engager un combat avec un compétiteur non apparenté pourrait être favorisé en tant que comportement indirectement altruiste (Gardner et al., 2007 ; Gardner & West, 2004, 2010).

La reconnaissance de parentèle

Éviter les interactions agonistiques entre individus apparentés au cours d'un conflit implique néanmoins l'existence d'une reconnaissance de parentèle, c'est-à-dire l'**identification** (processus neurophysiologique) et la **discrimination** (expression de comportements différents) d'individus génétiquement apparentés. Différents mécanismes de reconnaissance ont été décrits dans la littérature, mais certains font encore aujourd'hui l'objet de débats quant à leur réelle pertinence, et les différences entre ces mécanismes sont souvent plus conceptuelles que biologiques (Mateo, 2004). Nous nous focaliserons ici sur trois principaux mécanismes :

- ❖ La **reconnaissance allélique** (effet « greenbeard » ; Dawkins, 1976 ; Blaustein, 1983)
- ❖ Le « **phenotypic matching** » (Gadagkar, 1985 ; Mateo, 2004)
- ❖ La **familiarité** (Lizé et al., 2012)

Les deux premiers mécanismes permettent la reconnaissance d'individus basée sur la perception d'indices phénotypiques codés génétiquement (Gadagkar, 1985). Cependant, la reconnaissance allélique conduit à la reconnaissance de la similarité au niveau du locus responsable de l'expression du trait phénotypique (Gardner & West, 2010), tandis que le second mécanisme conduit à la reconnaissance de

l'apparementement génétique à l'échelle du génome s'il existe une forte corrélation entre la similarité génétique et phénotypique (Gardner & West, 2010 ; Mateo, 2004). Comme la reconnaissance allélique peut impliquer une coopération entre des individus non apparentés exprimant le trait codé par un allèle donné, la fixation dans une population devrait être rare en raison de l'invasion par des tricheurs (Gardner & West, 2010). Contrairement au phenotypic matching où le génotype des individus est exprimé par leur phénotype, la familiarité se base quant à elle sur des indices phénotypiques liés à l'environnement (Lizé et al., 2012). Par exemple, des conspécifiques pourront ainsi être reconnus comme étant familiers s'ils partagent le même habitat comme un nid, un terrier, ou un hôte. Dans ces situations, il est rare que les individus familiers ne soient pas également génétiquement apparentés. Même si des erreurs surviennent, le niveau de familiarité reflète donc généralement celui de l'apparementement génétique. Ainsi, si le phenotypic matching et la familiarité sont considérés comme étant des mécanismes distincts, ils peuvent être vus dans certains cas comme une extension de l'un ou l'autre (Mateo, 2004).

Quoi qu'il en soit, la capacité à identifier et à discriminer des individus génétiquement apparentés lors de conflits a été observée au sein de nombreux taxa, tels que les nématodes (Kapranas et al., 2016), les amphibiens anoures (Blaustein & Waldman, 1992), les mammifères (Heth et al., 1998) et les insectes sociaux (Fletcher & Michener 1987 ; West Eberhard, 1989 ; Fournier et al., 2016). En revanche, chez les insectes non-sociaux, ce phénomène semble plus rare (Fellowes, 1998 ; Griffin & West, 2002) voire même absent (Bourdais & Hance, 2009 ; Ruf et al., 2010). Par exemple, chez les guêpes du figuier, l'intensité des combats entre males n'est pas corrélée à leur niveau d'apparementement génétique (mais varie négativement avec les opportunités d'accouplements futurs ; West et al., 2001). Ce manque intrigant de discrimination de parentèle chez les espèces non-sociales est une invitation à explorer quelles pressions de sélection sont à l'origine de ces différences interspécifiques.

Lorsque la dispersion s'en mêle

La diminution de l'agressivité envers les conspécifiques apparentés permet de limiter les coûts tout en augmentant la fitness inclusive des individus. Toutefois, certains modèles théoriques prédisent que la discrimination de parentèle pourrait ne peut pas être observée dans les populations au sein desquelles existe localement un fort niveau de compétition entre apparentés (West et al., 2001), ou lorsque les erreurs de discrimination sont coûteuses d'un point de vue évolutif (Segoli et al., 2009). Par exemple, parmi les espèces chez lesquelles la dispersion depuis le lieu de naissance est faible (« viscosité »), la probabilité d'entrer localement en compétition avec des conspécifiques génétiquement proches est importante, ce qui réduit les chances d'entrer en compétition avec des non-apparentés (Taylor, 1992 ; Queller, 1994 ; West et al., 2002). La compétition pour les ressources entre apparentés augmente alors et peut prendre le dessus sur l'évolution des comportements moins agressifs (West et al., 2001 ; Griffin & West, 2002 ; **Fig. 1.7**).

Si ces prédictions semblent s'appliquer à certains systèmes biologiques (voir West et al., 2002), Lion & van Baalen (2008) se veulent plus nuancés : selon ces auteurs, ce qui est important pour l'évolution de l'altruisme n'est pas de savoir si la compétition agit localement ou globalement, mais si l'échelle de compétition est assez importante par rapport à l'échelle à laquelle les interactions altruistes se produisent. Bien que subtile, cette distinction est cruciale car elle implique que le niveau de dispersion des individus dans une population donnée ne permet pas toujours de prédire si la discrimination de parentèle peut opérer dans cette population.

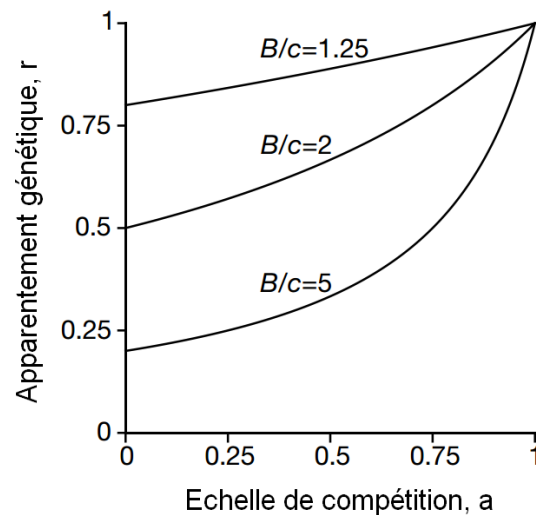


Figure 1.7. Apparement (r) minimal requis pour favoriser l'altruisme, en fonction de l'échelle de compétition (a) (Frank, 1998). La compétition varie de complètement globale ($a = 0$) à complètement locale ($a = 1$). Les différentes courbes représentent différents ratios de B / c , où B représente les avantages pour la fitness des bénéficiaires en l'absence de compétition entre apparentés, et c le coût de l'altruisme pour l'acteur. Il faut noter que: (i) à mesure que la compétition devient plus locale (compétition accrue entre individus apparentés; valeur de a plus importante), l'avantage de l'apparement (r) ou de la fitness relative pour le bénéficiaire (B / c) doit augmenter afin de favoriser l'altruisme; (ii) lorsque la compétition est complètement locale ($a = 1$), l'altruisme ne peut pas se répandre (requiert $r > 1$), (modifié d'après West et al., 2001).

Effet de la reconnaissance de parentèle sur les conflits entre parasitoïdes

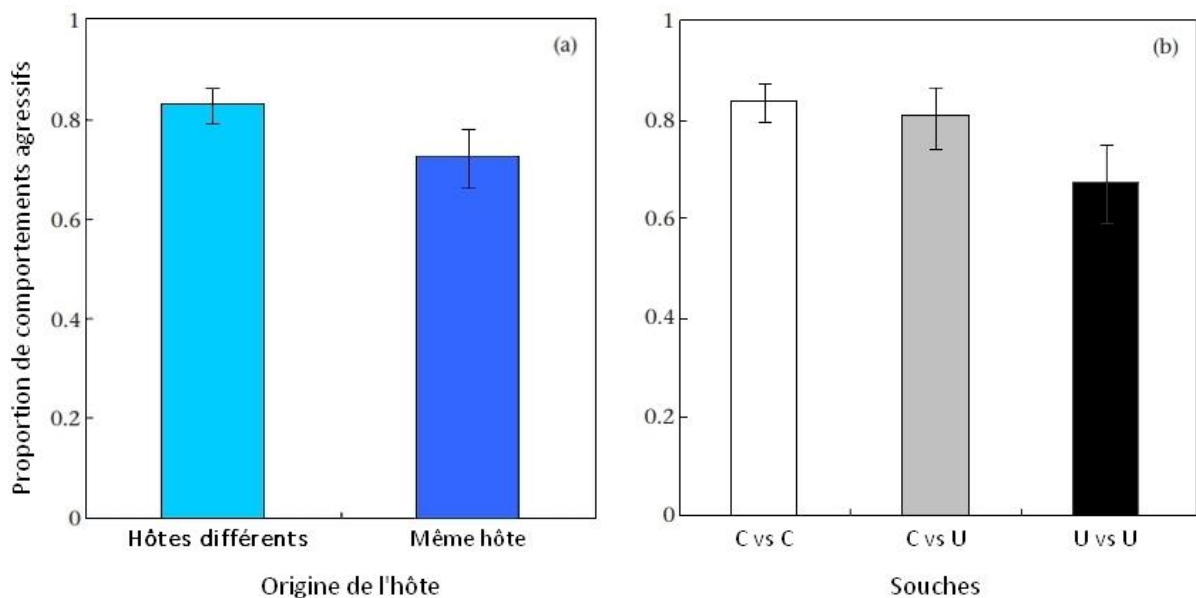


Figure 1.8. Effets du partage de l'hôte et des souches génétiques sur l'agressivité des rencontres entre femelles chez le parasitoïde grégaire *Goniozus legneri* (modifié à partir de Lizé et al., 2012). Les graphiques représentent la proportion de comportements agressifs (moyennes $\pm$ S.E.) selon (a) si les compétitrices se sont développées sur le même hôte ($N = 42$) ou non ($N = 38$) et (b) les souches impliquées (C vs C : $N = 28$; C vs U : $N = 26$; U vs U : $N = 26$).

À notre connaissance, les deux seules études qui ont montré l'effet de la reconnaissance des apparentés sur l'évitement de la compétition et l'agressivité chez les parasitoïdes concernent les conflits entre femelles : (i) chez les juvéniles de la guêpe polyembryonnaire (multiplication clonale de la mère dans l'hôte) *Copidosoma floridanum* (Giron et al., 2004 ; voir aussi Segoli et al., 2009) et (ii) chez les adultes du parasitoïde grégaire *Goniozus legneri* (Lizé et al., 2012). Ainsi, le nombre de comportements d'attaques par les larves soldats de *C. floridanum* est négativement corrélé au niveau d'apparentement génétique avec leurs compétitrices (Giron et al. 2004), et les femelles de *G. legneri* sont moins agressives envers des femelles de la même souche génétique et envers des femelles qui se sont développées sur le même hôte (Fig. I.8).

Toutefois, *Copidosoma floridanum* et *Goniozus legneri* sont toutes deux des espèces exprimant un certain degré de socialité (division des tâches reproductives et soin aux juvéniles, respectivement) et les seuls travaux explorant le rôle de la reconnaissance de parentèle sur les conflits chez des espèces de parasitoïdes non-sociaux concernent des combats entre mâles du genre *Melittobia*, chez qui l'apparentement génétique entre mâles n'affecte pas leur niveau d'agressivité (Innocent et al., 2011). Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour tester si la reconnaissance de parentèle peut influencer, chez une espèce parasitoïde non-sociale, les combats entre femelles et ainsi permettre des comparaisons plus pertinentes.

Les mécanismes sous-jacents : le rôle des hormones

Comme nous l'avons vu au cours des précédentes sections, l'agressivité peut aider les individus à accéder à une ressource et à obtenir ainsi des bénéfices en termes de fitness, mais être agressif en permanence peut également être coûteux. Il est donc important pour les animaux de moduler leurs comportements agressifs en fonction des coûts et bénéfices liés à leur expression (Maynard Smith & Price, 1973). Dans ce contexte, les hormones sont un moyen important par lequel les animaux peuvent rapidement adapter leurs réponses comportementales en fonction de leur environnement (Tibbetts & Crocker, 2014).

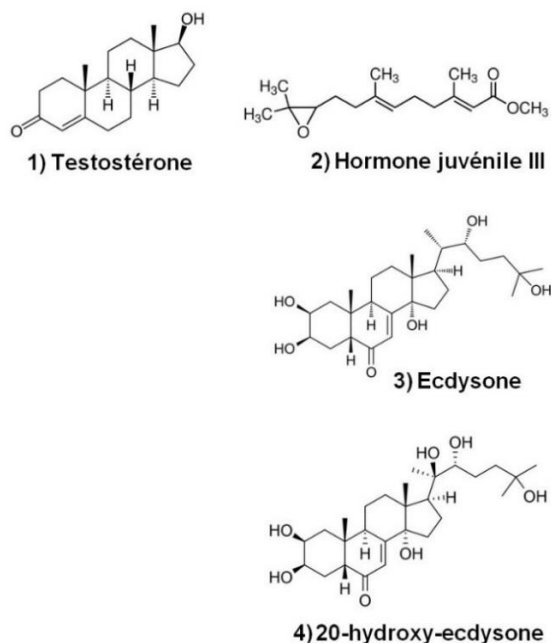


Figure I.9. Structure chimique de 1) la testostérone, une hormone stéroïde des vertébrés, 2) l'hormone juvénile III, un sesquiterpène des insectes, 3) l'ecdysone et 4) la 20-hydroxy-ecdysone, deux hormones stéroïdes retrouvées chez les insectes et les plantes.

L'hypothèse du challenge chez les vertébrés

Chez les vertébrés, les androgènes comme la testostérone (T ; **Fig. I.9**), sont des stéroïdes produits par les gonades et les glandes surrénales. Ces hormones ont des effets activateurs et organisationnels (i.e., qui surviennent pendant une période critique spécifique au début du développement et créent des changements permanents dans les réponses neuronales qui sous-tendent les comportements ; revue dans Elekonich & Robinson, 2000) tout au long de l'ontogenèse des individus et sont particulièrement importantes aussi bien pour la différenciation sexuelle et que pour la régulation des caractères sexuels secondaires. Chez les mâles adultes, la T influence notamment la spermatogenèse (Wingfield et al., 1987 ; Weinbauer et al., 2004) et la réceptivité sexuelle (Adkins-Regan, 2005). Elle est également impliquée dans la modulation des comportements agressifs lors de conflits liés à la reproduction comme l'intrusion dans un territoire ou l'accès à un partenaire sexuel ; des taux élevés de T sont généralement bénéfiques dans ces situations car ils favoriseraient les capacités compétitives des individus (Wingfield, 1984 ; Wingfield et al., 2001). Néanmoins, des niveaux élevés de T constants impactent négativement la survie et les fonctions immunitaires chez de nombreux vertébrés (Adkins-Regan, 2005). Il y a donc un avantage sélectif à ce que les niveaux de T n'augmentent que lorsque cela est nécessaire (Wingfield, 1991).

C'est dans ce contexte que l'hypothèse du challenge fournit un cadre conceptuel pour comprendre comment ces trade-offs favorisent les variations intra- et interspécifiques des taux d'androgènes (Wingfield et al., 1990 ; Oliveira, 2004 ; Goymann, 2009). Il a en effet été montré que les animaux confrontés à une période d'instabilité sociale et à des conflits agressifs subissent des modifications des taux d'androgènes à court et à long termes qui varient selon les taxa (Adkins-Regan, 2005 ; Hirschenhauser & Oliveira, 2006 ; Hirschenhauser et al., 2003, 2004 ; Goymann et al., 2007 ; Tibbetts & Crocker, 2014). À l'origine, cette hypothèse développée par Wingfield et al. (1990) visait à expliquer la complexité des patterns saisonniers des androgènes chez les oiseaux, et à expliquer comment des facteurs sociaux influencent la sécrétion de T. En résumé, l'hypothèse du challenge postule qu'au début de la saison de reproduction, les taux d'androgènes chez les mâles augmentent à partir d'un taux basal faible (niveau A) à un taux basal élevé (niveau B ; **Fig. I.10**). Ce taux basal élevé est suffisant pour permettre une spermatogenèse normale, le développement de caractéristiques sexuelles secondaires et les comportements reproducteurs. Cependant, le niveau B reste bien en dessous du maximum physiologique (niveau C) et est considéré comme ayant peu d'effet stimulant sur l'agressivité mâle-mâle (Wingfield et al., 1990). Chez les espèces parmi lesquelles les mâles fournissent des soins paternels, les taux de T devraient dépasser le niveau basal B pour atteindre le niveau C maximum uniquement lorsque l'agressivité est déclenchée par des challenges avec autres mâles. À d'autres moments, les niveaux d'androgènes restent proches du niveau basal B car l'agressivité interfère avec les soins paternels (**Fig. I.10**). Ainsi, l'augmentation du niveau A au niveau B se produit périodiquement au début de chaque saison de reproduction, et est généralement déclenchée par un changement de photopériode (surtout chez les espèces des zones tempérées ; Goymann et al., 2007, Goymann, 2009). En revanche, l'augmentation du niveau B au niveau C est facultative : elle est supposée être causée principalement par un challenge social (Wingfield et al., 1990). Ainsi, dans les espèces où la compétition entre mâles est intense et où les mâles fournissent peu ou pas de soins paternels, les niveaux de testostérone devraient atteindre un maximum physiologique (niveau C) et rester à des concentrations élevées tout au long de la saison de reproduction. Cela faciliterait l'expression d'un comportement approprié pour la compétition mâle-mâle (Wingfield et al., 1990). En revanche, dans les espèces où les mâles fournissent beaucoup de soins paternels, l'augmentation du niveau B au niveau C peut se produire en cas de challenge social, mais les taux de T devraient ensuite rediminuer pour ne pas

interférer avec les soins aux jeunes. Chez les vertébrés, les prédictions de base de l'hypothèse du challenge ont été appuyées par de nombreuses études comparatives réalisées sur différents taxa (Hirschenhauser et al., 2003; Hirschenhauser & Oliveira, 2006), incluant même l'Homme (Archer, 2006 ; Winfield et al., 2017).

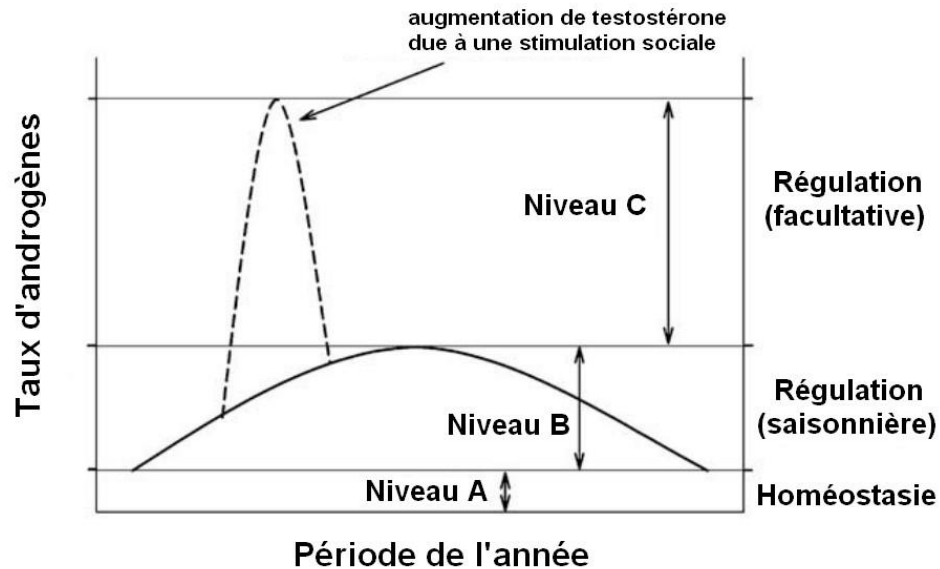


Figure 1.10. Représentation graphique d'un modèle à 3 niveaux des taux d'androgènes chez les oiseaux mâles (modifié à partir de Goymann et al., 2007). Le niveau A représente le taux basal d'androgènes requis pour la régulation des hormones gonadotropes. Le niveau B représente le taux basal d'androgènes pendant la saison de reproduction qui dépend d'indices environnementaux comme une augmentation de la photopériode. Le niveau B est suffisant pour permettre la spermatogenèse, l'expression de caractères sexuels secondaires et les comportements reproducteurs. Le niveau C représente le maximum physiologique du taux de testostérone qui peut être atteint pendant des interactions avec d'autres mâles ou des femelles sexuellement réceptives. L'augmentation du niveau A au niveau B intervient de façon saisonnière au début de la saison de reproduction, tandis que l'augmentation du niveau B au niveau C est facultative, i.e., elle est déclenchée seulement en cas d'une stimulation sociale ou d'un challenge avec un autre mâle.

Chez les insectes

Si elle est largement décrite chez les vertébrés, la modulation endocrinienne des comportements agonistiques est encore relativement peu connue chez les insectes (Zera, 2007; Tibbetts et al., 2014). Pourtant, certaines hormones comme l'hormone juvénile (JH) sont de bonnes candidates pour étudier la réponse endocrinienne des individus en situation de conflit associé à la reproduction. En effet, si la JH joue un rôle important dans la maturation des gamètes chez de nombreux insectes adultes (Nijhout, 1994; Robinson & Vargo, 1997; Hartfelder, 2000), des niveaux élevés de JH sont également associés à l'expression de comportements agressifs chez des individus en situation de challenge (Tibbetts & Crocker, 2014). Une autre famille d'hormones, les ecdystéroïdes (ESH), pourraient également influencer les comportements agressifs lors des conflits car ces hormones sont déjà connues pour être impliquées dans la croissance et la reproduction des insectes, et pourraient donc moduler les réponses aux variations de l'environnement social (Raikhel et al., 2005).

Une revue de la littérature décrivant dans quelle mesure l'hypothèse du challenge peut s'appliquer aux insectes est proposée dans le Chapitre 5. Pour éviter toute redondance, nous nous concentrons ici sur les structures et les voies de biosynthèse des principales familles d'hormones impliquées dans la médiation des comportements chez les insectes, en décrivant leur rôle relatif sur les traits d'histoires de vie et les comportements non-agonistiques.

Structures, sites de production et voies de biosynthèse

L'identification chimique de la JH a été rendue possible par la découverte d'une source de cette hormone dans l'abdomen des mâles de la teigne des soies, *Hyalophora cecropia* (Röller et al., 1965 ; Hartfelder, 2000). Sa structure, élucidée par Röller et al. (1967) correspond à un sesquiterpène ester méthylique d'époxyde (Beroza & Menn, 1972 ; Breed & Bell, 1983 ; Bloch et al., 2009). Parmi les huit formes de JH présentes dans la nature (voir Goodman & Granger, 2005), la JHIII (**Fig. I.9**) est la forme la plus répandue parmi les hyménoptères (Goodman, 1990 ; Nijhout, 1994 ; Bloch et al., 2009 ; Niorega, 2014), tandis que la JHI et la JHII se trouvent principalement chez les lépidoptères.

La JH est généralement produite et libérée dans l'hémolymphe par les corps allates (CA), une paire de glandes attachées au cerveau (Lafont, 2000 ; Riddiford, 2008 ; Bloch et al., 2009 ; Niorega, 2014). Le cerveau des insectes est une source importante de neuropeptides qui régulent la production de JH par les CA (e.g., voir Woodhead et al., 1989 ; Donly et al., 1993 ; Stay et al., 1994). Certaines amines biogènes (octopamine, sérotonine et dopamine) sont d'autres modulateurs puissants de l'activité des CA, mais leur action varie fortement d'une espèce à l'autre (Thompson et al., 1990 ; Hartfelder, 2000).

La synthèse de la JH commence à partir des sous-unités acétyl-CoA et / ou propionyl-CoA et suit la voie du mévalonate vers l'acide farnésique (**Fig. I.II**). Fortement lipophiles, elle est ensuite transportée de son site de synthèse vers les tissus cibles via des protéines spécifiques de liaison de haute affinité qui facilitent son transport dans l'hémolymphe (Hartfelder, 2000). Aujourd'hui, le récepteur nucléaire identifié est le récepteur méthoprène-tolérant (« Met » ; Riddiford et al., 2008 ; Roy et al., 2018), localisé dans le noyau des cellules folliculaires ovariennes chez les femelles adultes et dans le noyau des glandes annexes et des cellules du canal éjaculatoire chez les mâles (Pursley et al., 2000).

Les ESH sont des hormones stéroïdes présentes à la fois chez les insectes et les plantes (Festucci-Buselli et al., 2008). L'ecdysone est le terme utilisé pour désigner le composé chimique spécifique 2b, 3b, 14a, 22R, 25-pentahydroxy-5b-cholest-7-en-6-one, à l'origine connu sous le nom de α -ecdysone (Raikhel et al., 2005), alors que la 20-hydroxy-ecdysone (20HE) est le métabolite d'ecdysone actif dans la plupart des réponses bien caractérisées (**Figure I.9** ; Hoffmeister & Grutzmacher, 1966 ; Horn et al., 1966 ; Raikhel et al., 2005 ; Bloch et al., 2009). Même si la forme la plus courante chez les insectes est la 20HE, d'autres ESH ont été isolés à partir d'invertébrés et de plantes (leurs structures sont disponibles sur Ecdybase, Lafont et al., 2002 ; Festucci-Buselli et al., 2008). Par exemple, les abeilles synthétisent la makisterone A (Feldlaufer et al., 1986 ; Bloch et al., 2009).

Chez les insectes immatures, les ecdystéroïdes sont produits par les glandes prothoraciques (Lafont, 2000 ; Bloch et al., 2009) et par l'épiderme entier chez certaines espèces (Delbecque et al., 1990 ; Lafont et al., 1995). Chez les adultes, ces glandes de mue dégénèrent et les ESH sont ensuite produits par le corps gras, les gonades ou l'épiderme (Hoffmeister & Grutzmacher, 1966 ; Horn et al., 1966 ; Nijhout, 1994 ; Lafont, 2000 ; Festucci-Buselli et al., 2008 ; Bloch et al., 2009). L'hormone neuropeptidique prothoracicotrope (PTTH), produite dans le cerveau et stockée dans les CA, stimule la glande prothoracique ou les cellules gonadiques afin de synthétiser les ESH (Gilbert et al., 2002 ; Gilbert, 2004 ; Festucci-Buselli et al., 2008).

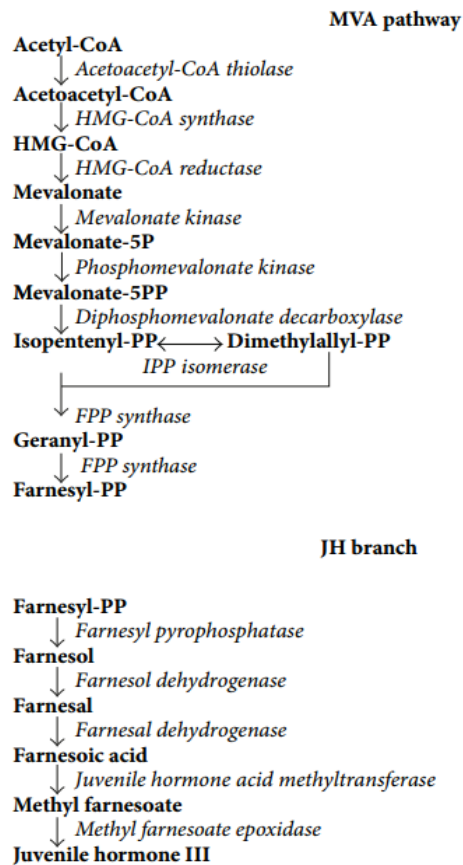


Figure I.II. Voie de biosynthèse de la JH. La biosynthèse de JHIII implique 13 réactions enzymatiques qui peuvent être classiquement divisées en étapes précoces (MVAP pathway) et tardives (JH-branch). Les métabolites apparaissent en gras et les enzymes en italique (d'après Niorega, 2014)

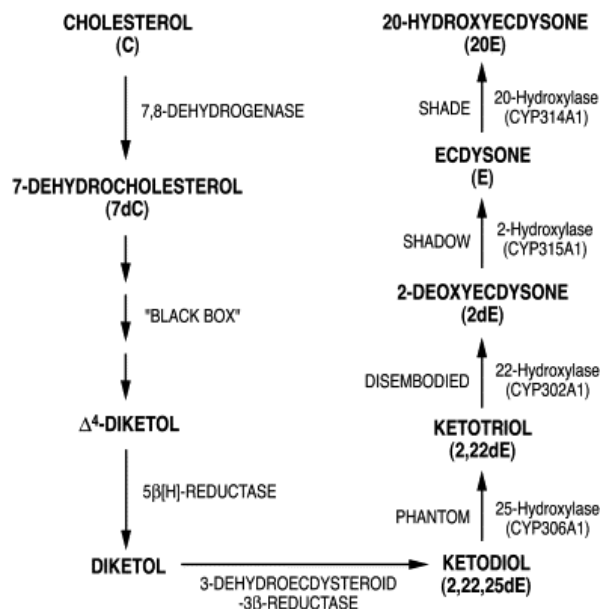


Figure I.I2. Voie de biosynthèse des ecdystéroïdes. Les flèches multiples indiquent une voie non caractérisée, impliquant peut-être plus d'une transformation biochimique. Les métabolites sont indiqués en gras. Les réactions d'oxydation non caractérisées entre le 7-déshydrocholestérol (7dC) et le Δ^4 -dicétol sont communément appelées la « black box » (d'après Gilbert & Warren, 2005).

La voie de biosynthèse de l'ecdysone comprend plusieurs étapes catalysées par des mono-oxygénases du cytochrome P-450 (Grieneisen, 1994 ; Lafont, 2000 ; Festucci-Buselli et al., 2008 ; **Fig. 1.12**). Elle est ensuite hydroxylée dans les tissus périphériques et donne la 20HE (Gilbert & Warren, 2005 ; Festucci-Buselli et al., 2008). Comme pour les autres stéroïdes, les ESH passent ensuite à travers la membrane cellulaire du corps gras ou de l'épiderme, pénètrent dans le noyau et se lient aux protéines du récepteur nucléaire : dans le cas présent, un hétérodimère composé du récepteur à l'ecdysone (EcR) et du récepteur Ultraspiracle (USP), localisés chez les insectes adultes dans pratiquement tous les tissus, comme le système nerveux central, le corps gras, l'intestin et les tissus reproducteurs mâles et femelles (revue dans Schwedes & Carney, 2012). Finalement, le complexe récepteur-hormone se lie à des séquences spécifiques de l'ADN pour réguler la transcription des gènes (Bloch et al., 2009 ; Roy et al., 2018).

Les effets sur les traits d'histoires de vie et les comportements non-agressifs

La JH contrôle une pléthore de fonctions, notamment les processus physiologiques et de développement, les comportements et les traits d'histoires de vie liés à la fitness (Teal et al., 2000 ; Flatt et al., 2005 ; Crook et al., 2008 ; Trumbo & Robinson, 2008). Par exemple, chez différentes espèces, la JH affecte la diapause des adultes, les comportements migratoires, les réponses au stress, le polyéthisme d'âge chez les insectes sociaux, l'apprentissage et la mémoire ainsi que les soins parentaux (Nijhout, 1994 ; Wyatt & Davey, 1996 ; Robinson & Vargo, 1997 ; Flatt et al., 2005 ; Wheeler & Nijhout, 2003 ; Tibbetts & Crocker, 2014).

Chez les insectes immatures, la JH régule la métamorphose (Williams, 1952 ; Willis, 1969 ; Riddiford, 1996), les larves en développement ne muant au stade suivant que lorsque les taux de JH sont élevés pendant une période critique précédant chaque mue. Une baisse des taux de JH est alors nécessaire pour réaliser la métamorphose en pupes puis en adulte (Bloch et al., 2009). Chez les insectes holométaboles, la JH maintient également la morphostase (i.e., une division cellulaire sans différenciation) dans les disques imaginaux et les primordia au cours de la période de croissance des larvaires entre chaque mue (Truman et al., 2006). De plus, la JH induit souvent d'autres processus de transformation, tels que des polyphénismes saisonniers spécifiques à un stade ou à un changement de comportement, comme chez les abeilles ouvrières de nourrice à butineuse (Nijhout, 1999 ; Riddiford, 2008).

Chez les insectes adultes, bien qu'elle ne soit pas sexe-spécifique (Chapman, 1998), la principale fonction connue de la JH est le contrôle des processus de reproduction des femelles (Breed & Bell, 1983) en agissant comme une hormone gonadotrope (Koeppe et al., 1985 ; Nijhout, 1994 ; Wyatt & Davey, 1996). Une augmentation des taux de JH provoque ou accélère ainsi la synthèse de vitellogénine (Vg) par le corps gras et l'absorption de la Vg par les ovocytes en développement. Il existe cependant moins de preuves que la JH assure la médiation de la fertilité des mâles ou stimule la spermatogenèse. Certaines études montrent que l'application de JH accélère le développement des testicules, tandis que d'autres ont constaté que l'application de JH le retarde (Dumser, 1980). Chez certaines espèces, la JH est aussi impliquée dans la régulation de la synthèse des phéromones sexuelles (voir Tillman et al., 1999 pour une revue de la littérature). La JH a néanmoins des effets négatifs sur les fonctions immunitaires et la durée de vie (Flatt & Kawecki, 2007) : l'ablation chirurgicale des CA augmente la durée de vie des sauterelles et des papillons (Tatar & Yin, 2001), et un traitement au méthoprène (un analogue de la JH) réduit de manière dose-dépendante la survie des guêpes « à papier » (Tibbetts & Banan, 2010 ; Tibbetts & Crocker,

2014). La JH intervient donc dans le compromis entre la durée de vie et la fécondité chez un large éventail d'insectes (Flatt et al., 2005 ; Tibbetts & Crocker, 2014).

Enfin, la JH peut influencer le comportement par ses effets sur les seuils de réponse. Chez le grillon domestique, *Acheta domesticus*, les femelles matures deviennent plus sensibles aux chants des mâles à mesure que le taux de JH circulant augmente : des expériences ont révélé que la JH augmentait la sensibilité d'inter-neurones auditifs spécifiques en abaissant les seuils de réponse neuronale (Stout, 2002). De même, la JH intervient dans la réponse des mâles du papillon de nuit *Agrotis ipsilon* à la phéromone sexuelle des femelles, des taux élevés de JH abaissant les seuils de réponse des interneurones dans les lobes olfactifs (Anton & Gadenne, 1999 ; Gadenne & Anton, 2000). Ces résultats suggèrent que la JH module, directement ou indirectement, les modifications de la réactivité neuronale aux stimuli pertinents pour le comportement (Bloch et al., 2009).

Chez les insectes immatures, les ESH ont principalement été identifiés comme des hormones de mue (Butenandt & Karlson, 1954 ; Lafont, 2000). Les ESH ont en effet une fonction essentielle chez tous les insectes : des impulsions spécifiques de 20HE synchronisent le processus de mue avec l'embryogenèse, le développement larvaire et la métamorphose (Makka et al., 2002 ; Festucci-Buselli et al., 2008 ; Bloch et al., 2009).

Chez les adultes, ils sont impliqués dans le contrôle de la reproduction et des comportements reproducteurs (Nijhout, 1994 ; Lafont, 2000 ; Ringo, 2002). Les ESH participent ainsi à la régulation de l'ovogenèse, de la vitellogenèse et de la production de phéromones sexuelles (Hagedorn, 1985). Par exemple, le rôle principal des ESH chez les diptères est la régulation de la production de Vg, comme cela a été démontré pour la première fois chez le moustique *Aedes aegypti* (Raikhel et al., 2005).

Les ESH pourraient également moduler les réponses aux environnements sociaux et non sociaux (Raikhel et al., 2005 ; Tibbetts & Crocker, 2014). Chez certains hémiptères et orthoptères présentant du polyphénisme, le surpeuplement larvaire pendant des périodes sensibles se traduit par des taux d'ESH plus élevés et par le développement de morphes ailés (Hartfelder & Emlen, 2012). Les ESH, comme les hormones stéroïdes des vertébrés, ont également une action rapide, non génomique, sur les propriétés de la membrane cellulaire qui pourrait être particulièrement pertinente pour comprendre le rôle des ecdystéroïdes en tant que modulateurs du comportement (Wehling, 1994 ; Cooper & Ruffner, 1998 ; Ruffner et al., 1999 ; Bloch et al., 2009).

Interactions entre la JH et les ESH

Stay et al. (1980) ont montré que l'ecdysone, sécrétée par des œufs matures chez la blatte *Diploptera punctata*, inhibe la synthèse et la libération de JH (Breed & Bell, 1983). Inversement, la JH peut agir en tant que régulateur de la synthèse des ESH (Hartfelder, 2000). Chez les lépidoptères, la JH affecte l'activité des glandes prothoraciques principalement par la voie des PTTH (Gruetzmacher et al., 1984), tandis que l'incubation de glandes prothoraciques isolées de larves d'abeilles mellifères en présence de méthoprène stimule directement la production d'ESH in vitro (Hartfelder & Engels, 1998).

La JH est également impliquée dans la synthèse des ESH au niveau génomique. Chez *M. sexta* par exemple, l'induction de l'ARNm E75 par la 20HE s'est avérée très atténuée dans l'épiderme des larves de quatrième stade, qui ont généralement un taux de JH endogène élevé. Ces résultats ont montré pour la première fois que l'expression des gènes induite par la 20HE est également influencée par la JH (Hartfelder, 2000). Une autre preuve du rôle modulateur de la JH dans l'expression des gènes régulés par

la 20HE provient d'études sur les protéines de stockage des larves synthétisées dans le corps gras de la fausse-arpenteuse du chou, *Trichoplusia ni*, appuyant fortement l'idée que la JH affecte à la fois les taux de transcription des ESH et la stabilité de l'ARNm (Hartfelder, 2000).

Comme la JH et les ESH sont liées sur le plan physiologique, il n'est pas surprenant que les interactions entre ces hormones jouent un rôle central dans divers contextes de la biologie des insectes (Riddiford, 2008 ; Bloch et al., 2009). Le rôle le plus évident concerne le contrôle de la mue au cours de laquelle le taux de JH par rapport à celui des ESH semble déterminer le degré de caractéristiques morphologiques juvéniles exprimées (Breed & Bell, 1983). De plus, l'interaction entre la JH et les ESH affecte la régulation de la physiologie de la reproduction, comme c'est le cas pour la vitellogenèse et le développement ovarien (Hagedorn, 1983, 1985 ; Riddiford, 2008 ; Bloch et al., 2009). Par exemple, la JH joue, chez les femelles de diptères, un rôle important en tant que précurseur de la régulation de la vitellogénèse par les ESH (Raikhel et al., 2005). Dans les sociétés d'insectes, cette interaction hormonale est impliquée dans le contrôle de la division du travail (Robinson, 1987 ; Robinson & Vargo, 1997 ; Hartfelder, 2000 ; Riddiford, 2008) bien que de plus en plus de travaux montre l'implication d'autres facteurs tels que les amines biogènes (Sasaki & Nagao, 2001 ; Sasaki et al., 2007, 2009) dans ces processus.

Mais où sont passés les parasitoïdes ?

De nombreuses études existent sur la façon dont les parasitoïdes affectent les taux hormonaux de leur hôte (e.g., voir Beckage & Templeton, 1986 ; Grossniklaus-Bürgin & Lanzrein, 1990 ; Steiner et al., 1999 ; Lee & Kim, 2004), ou comment la manipulation hormonale des hôtes influence les traits d'histoires de vie de leurs parasitoïdes (Wilkinson & Ignoffo, 1973 ; Beckage & Riddiford, 1982). Par exemple, Beckage & Riddiford (1982) ont montré que traiter les larves parasitées de *Manduca sexta* avec de la JHI, JHIII ou du méthoprène pouvait totalement inhiber l'émergence de la guêpe endoparasitoïde *Apanteles congregatus*. Cependant peu d'espèces ont véritablement fait l'objet de travaux de recherche sur le lien direct entre hormones, traits d'histoire de vie et comportements des individus. Si une expérience a permis de tester l'effet de la JH et de l'ecdysone sur la diapause des larves de *Nasonia vitripennis* (De Loof et al., 1979), le modèle biologique qui semble le plus étudié jusqu'à présent est la guêpe ectoparasitoïde *Eupelmus vuilleti* (voir ci-après).

Objectifs de la thèse

Au cours de ma thèse, nous nous sommes intéressés à deux grandes questions concernant la compétition intraspécifique directe pour l'accès à une ressource indivisible chez les parasitoïdes :

Quels sont les facteurs affectant les stratégies comportementales des individus lors des combats ?

Nous nous sommes notamment focalisés sur i) l'effet de la valeur objective et subjective de la ressource sur l'agressivité des individus à se battre et à accéder à la ressource, et ii) le rôle de l'appareil génétique entre individus dans l'évitement de la compétition.

Quels sont les mécanismes sous-jacents impliqués dans la modification de ces comportements ?

Nous sommes intéressés à la médiation hormonale des comportements agressifs exprimés lors des combats en se concentrant sur le rôle i) de la JH et ii) des ESH.

Pour répondre à ces questions, nous avons mené différents travaux sur les femelles d'un hyménoptère parasitoïde : *Eupelmus vuilleti*. *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera : Eupelmidae) est un ectoparasitoïde solitaire (voir **encart I.I**), chez lequel les femelles parasitent et se nourrissent des larves et des nymphes de la bruche du Niébé, *Callosobruchus maculatus* (Fab) (Coleoptera : Bruchidae), qui infeste les graines de Niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp (Fabaceae ; Terrasse & Rojas-Rousse, 1986 ; voir le **Chapitre 2** pour une description du système tritrophique).

En Afrique sub-saharienne, les agriculteurs stockent traditionnellement les graines de Niébé dans des greniers, qui se retrouvent alors rapidement infestées par *C. maculatus*. Cette prolifération des bruches assure une grande disponibilité en hôtes pour les parasitoïdes, mais ceux-ci sont à différents stades de développement et peuvent donc être de qualité variable. Terrasse & Rojas-Rousse (1986) ont par exemple observé que le nombre d'œufs pondus par les femelles *E. vuilleti* variait selon le stade de développement des hôtes : les guêpes semblent pondre plus d'œufs sur des nymphes de *C. maculatus* que sur des larves au 4^{ème} stade larvaire. Bien que ce résultat suggère que des hôtes à un stade plus avancé représentent une ressource de meilleure qualité (forte RV objective), aucune étude ne s'est directement penchée sur les bénéfices pour les femelles en termes de fitness que représente l'exploitation des hôtes.

Lorsque plusieurs femelles *E. vuilleti* sont simultanément présentes sur un patch, elles ont tendance à protéger l'hôte qu'elles exploitent en exprimant des comportements agressifs envers leurs congénères lors de combats (voir **Chapitre 2** ; Mohamad et al., 2010). Étant donné que les graines de Niébé sont souvent infestées par plusieurs hôtes, plusieurs parasitoïdes peuvent émerger de la même graine, ce qui conduit à une compétition intense entre femelles *E. vuilleti* génétiquement apparentées et non apparentées. Pourtant, on ne sait pas si les femelles de cette espèce sont capables de détecter le degré d'apparentement génétique de leurs conspécifiques, ni si elles modulent leurs comportements agonistiques sur la base de cet apparentement.

Par ailleurs, de précédentes études ont montré que l'intensité et l'issue de ces combats sont influencées par les asymétries existantes entre les compétitrices. En accord avec les modèles de la théorie des jeux, les femelles privées d'hôtes (i.e., avec une forte RV subjective) sont plus agressives et ont plus de chance de remporter un combat par rapport à des femelles provenant d'un habitat riche en hôtes (Mohamad et al., 2010), tandis que ce sont généralement les femelles résidentes qui gagnent les conflits, bien que l'intervalle de temps entre l'arrivée des femelles propriétaires et des femelles intruses doive être assez important (Mohamad et al., 2012). Néanmoins, les travaux de Mohamad et al. (2010, 2012) ont souligné que l'asymétrie majeure affectant l'agressivité des guêpes et l'issue des combats pour l'accès à un hôte chez *E. vuilleti* est leur différence de nombre d'œufs matures (i.e., charge en œufs) : les femelles sont en effet généralement plus agressives et ont une probabilité plus grande de gagner un combat lorsqu'elles ont une charge en œufs plus importante. Ces femelles prêtes à pondre pourraient accroître la valeur qu'elles placent dans l'hôte (RV subjective), ce qui les inciteraient à se battre davantage.

Pour finir, ce lien entre charge en œufs et agressivité des femelles (**Fig. I.I3**) pourrait suggérer un rôle des hormones dans la médiation des comportements agressifs et des stratégies comportementales lors des combats. En effet, les taux d'ecdysone, l'ESH majoritairement sécrétée par les femelles actives d'un point de vue reproductif (Bodin et al., 2007, 2009), augmentent presque immédiatement (dans les 2 min) après un simple contact avec un hôte. Cette augmentation des taux d'ecdysone est également corrélée avec la maturation d'un œuf au bout de 24h (Casas et al., 2009), ce qui pourrait accroître la motivation des parasitoïdes à se battre pour accéder à l'hôte. Cependant, nous ne connaissons étonnamment rien de l'implication des ESH dans l'agressivité et l'issue de la compétition intraspécifique chez *E. vuilleti*. De plus, bien qu'elle agisse souvent avec les ESH dans de nombreux aspects de la biologie des insectes

(Hagedorn, 1985; Nijhout, 1994), nous ne savons encore rien du rôle de la JH ni dans la reproduction des femelles ni dans la médiation des comportements lors des conflits pour l’accès à un hôte.

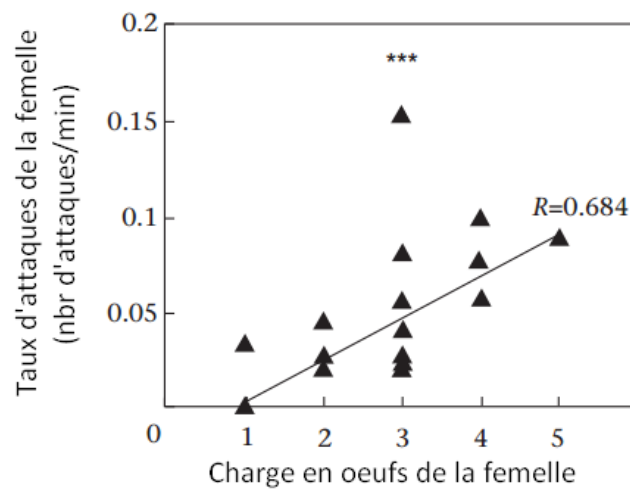


Figure I.13. Effet de la charge en œufs de la femelle focale sur son agressivité en termes de taux d’attaques (modifié d’après Mohamad et al., 2010). *** : $P < 0.001$.

Organisation de la thèse

Dans le **Chapitre 2** (suite de la **Partie I**) de la thèse, nous présentons les différentes espèces constituant le système tritrophique utilisé pour réaliser les différentes expériences. Nous détaillons différents aspects de la biologie de chacune de ces espèces, leurs relations au sein de ce système ainsi que leur maintien en élevage au laboratoire.

Dans la **Partie II**, nous évaluons l’importance de la valeur de la ressource et de l’apparentement génétique entre femelles parasitoïdes dans la compétition pour l’accès à un hôte.

- ❖ Dans le **Chapitre 3** (Mathiron et al., 2018), nous testons l’effet relatif de la valeur objective et subjective de l’hôte tels que son stade de développement, la pré-expérience de ponte des femelles et leur charge en œufs.
- ❖ Dans le **Chapitre 4** (Mathiron et al., 2019a), nous explorons le rôle de la reconnaissance de parentèle sur l’évitement de la compétition directe entre femelles et sur la résolution des conflits. Nous regardons en particulier l’effet de l’apparentement génétique (phenotypic matching) et de la familiarité.

Dans la **Partie III**, nous cherchons à comprendre le rôle des hormones dans la médiation des décisions comportementales des femelles lors des combats pour l’accès à un hôte.

- ❖ Dans le **Chapitre 5** (Tibbetts et al., 2019), nous faisons une revue de la littérature sur l'implication des hormones dans la réponse des individus face à une situation de conflit dans un contexte de compétition pour la reproduction. Dans le cadre de « l'hypothèse du challenge », nous comparons ce que nous observons chez les insectes avec ce que nous connaissons des vertébrés.
- ❖ Dans le **Chapitre 6** (Mathiron et al., 2019b), nous explorons le rôle de la JH dans la reproduction des femelles parasitoïdes et dans les comportements lors des combats pour un hôte en étudiant l'effet d'injection d'hormones sur la maturation des œufs ainsi que sur l'agressivité et l'issue des conflits.
- ❖ Dans le **Chapitre 7** (Mathiron et al. In prep), nous déterminons, via des quantifications et des manipulations hormonales, le rôle des ESH dans la reproduction des femelles parasitoïdes et leurs comportements lors des combats pour l'accès un hôte.

Dans la **Partie IV** (discussion générale), nous discutons de l'ensemble de ces résultats et ouvrons des perspectives de recherche sur les stratégies comportementales adoptées par les individus en situation de compétition intraspécifique et la médiation hormonale des comportements exprimés.

Chapitre 2

Description du système tritrophique

Dans ce chapitre, nous présentons les espèces constituant le système tritrophique utilisé pour réaliser nos différentes études, à savoir :

- ❖ La plante, *Vigna unguiculata* (Walp)
- ❖ L'hôte, *Callosobruchus maculatus* (Fab)
- ❖ Le parasitoïde, *Eupelmus vuilleti* (Craw)

La biologie de chacune de ces espèces, leurs relations au sein de ce système ainsi que leur maintien en laboratoire sont décrits.

Tableau 2.I. Position systématique des différentes espèces composant le système tritrophique étudié

Position systématique	Plante	Hôte	Parasitoïde
Ordre	Fabales	Coleoptera	Hymenoptera
Famille	Fabaceae	Bruchidae	Eupelmidae
Genre	<i>Vigna</i>	<i>Callosobruchus</i>	<i>Eupelmus</i>
Espèce	<i>unguiculata</i> Walp	<i>maculatus</i> Fabricius	<i>vuilleti</i> Crawford
Références	Singh & Rachie, 1985	Bridwell, 1929	Ndoutoume-Ndong, 1996

La plante : *Vigna unguiculata* (Walp)

Description

Le Niébé, *Vigna unguiculata* (Tab. 2.I), est une légumineuse alimentaire originaire de l'Afrique du sud-est. Cultivé des régions tropicales et subtropicales jusqu'au bassin méditerranéen (Murdock, 1959), sa zone principale de culture reste cependant l'Afrique de l'ouest (F.A.O., 2006). Le Niébé s'est néanmoins diffusé dans le monde entier : il est cultivé et consommé en Asie, en Amérique du Sud et du Centre, dans les caraïbes, aux Etats Unis, dans le moyen orient et en Europe australe (Cissé & Hall, 2001).

Vigna unguiculata est une plante herbacée annuelle autogame qui peut être à port érigé, rampante ou semi-rampante selon les diverses variétés (**Fig. 2.1**). L'inflorescence, de type grappe simple ou racème, est composée de fleurs de type corolle papilionacée, jaunes ou violacées. Le fruit est une gousse indéhiscente, longue de 7 à 15 cm, renfermant 8 à 15 graines. A la jonction avec le pédoncule, des nectaires sécrètent un liquide sucré qui coule le long de la gousse. La graine est reliée par le hile avec la suture dorsale de la gousse (Murdock, 1959).

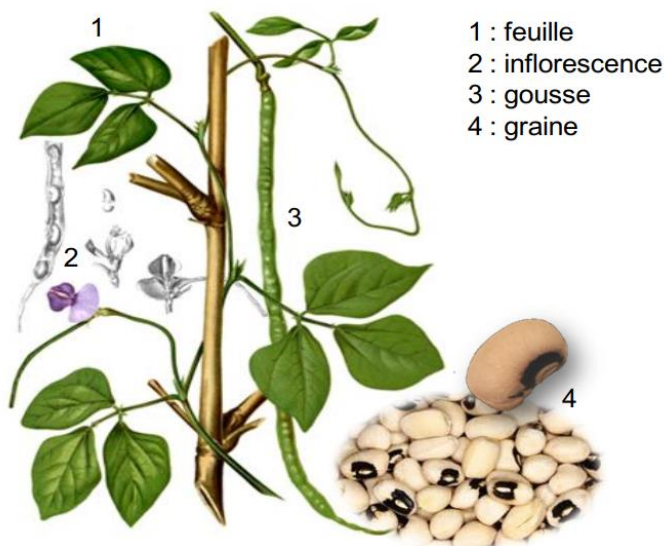


Figure 2.1. *Vigna unguiculata* (Walp), (modifié à partir de : <https://en.wikipedia.org/wiki/Vigna>).

La variété Black-Eyes California utilisée pour les élevages est la plus répandue dans l'Afrique de l'Ouest (Alzouma, 1987). Cependant, il existe toujours dans cette zone les sous-espèces *dekindtiana* et *mensensis*, formes sauvages de *V. unguiculata* et ancêtres des variétés cultivées.

Le cycle biologique et le stockage

En Afrique sub-saharienne, le Niébé est traditionnellement semé à la fin du mois de juin marquant généralement le début des premières pluies. La floraison intervenant 2 mois plus tard peut durer jusqu'à la fin de la saison des pluies (Alzouma, 1987). Elle est suivie peu de temps après par la fructification caractérisée par l'apparition de gousses vertes. Lorsque la majorité de ces gousses sont sèches, habituellement fin octobre/début novembre, elles sont récoltées et stockées dans des greniers traditionnels pouvant varier d'un demi à plusieurs mètres cubes (Germain, 1988), et fabriqués avec de l'argile mêlée à de la paille (i.e., banco ; **Fig. 2.2a**) ou des tiges de mil (**Fig. 2.2b**).

Les agriculteurs font néanmoins face à un problème majeur lors de la conservation des graines dans les greniers : les larves de Bruchidés, majoritairement de l'espèce *C. maculatus* (Jackai & Daoust, 1986), se développent en effet dans les graines en consommant les réserves contenues dans les cotylédons et peuvent ainsi détruire plus de 90% des récoltes après quelques mois de stockage (Kang et al., 2013). De ce fait, une grande partie des stocks est consommée rapidement au cours de la saison sèche pour éviter la perte due en partie aux insectes ravageurs. Cependant, une petite quantité est conservée pour les semences de l'année suivante.

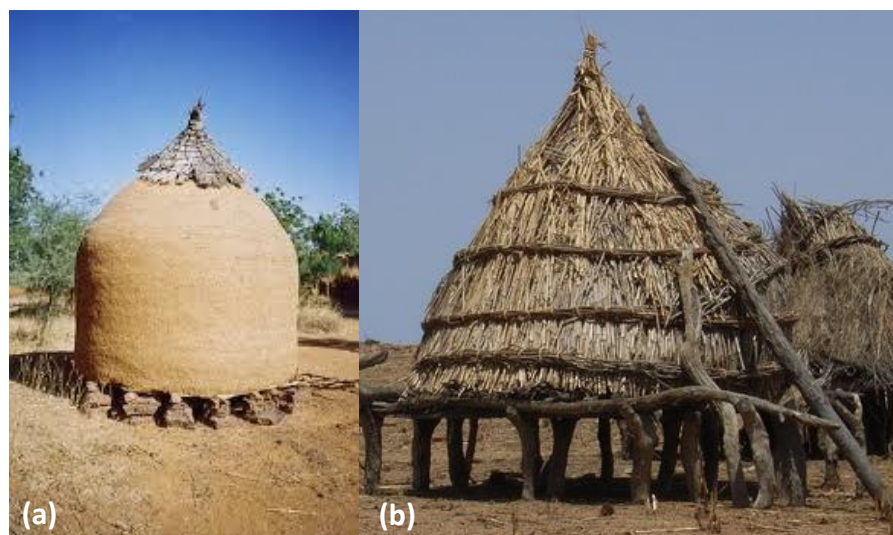


Figure 2.2. Greniers traditionnels de stockage du niébé au Niger. (a) Grenier en banco (b) grenier en paille de mil.
(sources : www.djibnet.com; www.jonglerenafrique.canalblog.com)

L'hôte : *Callosobruchus maculatus* (Fab)

Description

Callosobruchus maculatus, communément appelé la bruche du Niébé, est un petit coléoptère (de 2,8 à 3,5 mm) de la famille des Bruchidés (Tab. 2.1). Son corps est brun rougeâtre à gris et de forme oblongue. Les femelles sont de taille plus importante que les mâles et sont caractérisées par la coloration et les motifs du pygidium et des élytres (Jaloux, 2004 ; Fig. 2.3). C'est un insecte polyphage (Weidner & Rack, 1984) dont l'aire de répartition s'étend à toutes les zones tropicales et subtropicales de l'Afrique. En zone sahélienne, *C. maculatus* se développe le plus fréquemment au dépens de la légumineuse *V. unguiculata*, ce qui fait d'elle l'espèce de bruche causant le plus de dégât dans les stocks de Niébé (Jackai & Daoust, 1986 ; Monge & Germain, 1988).



Figure 2.3. *Callosobruchus maculatus* adultes : (a) mâle (b) femelle.

Le cycle biologique

Les femelles de *C. maculatus* pondent après l'accouplement sur des gousses sèches de Niébé ou directement sur les graines. Les œufs de forme convexe (environ 0,6 x 0,3 mm) sont translucides et aplatis sur la face fixée au substrat. Les larves au premier stade de développement (L1) perforent le tégument de la graine à l'aide de leurs mandibules. Elles pénètrent ensuite à l'intérieur en rejetant des fragments de tégument et de cotylédon à l'intérieur du chorion vide qui devient blanchâtre (Fig. 2.4).



Figure 2.4. Graine de Niébé infestée par *C. maculatus*. L'œuf de bruche est tout d'abord translucide (1) puis devient blanc (2) lorsque la larve néonate pénètre dans la graine. A la fin du développement larvaire, la pré-nymphe aménage une loge près de la surface, visible par transparence (3).

Les larves se développent dans la graine en consommant ses réserves cotylédonaires (Ouedraogo, 1978 ; Ouedraogo et al., 1996). La croissance des juvéniles comporte au total quatre stades larvaires (Fig. 2.5). La nymphose et la métamorphose ont lieu à l'intérieur d'une loge tapissée d'acide urique creusée par la larve à la périphérie de la graine (Doury, 1995; Ouedraogo et al., 1996). Par la suite, les adultes émergent de la graine après avoir découpé un opercule circulaire dans le chorion. Selon les conditions de température, les œufs peuvent se développer en imagos sexuellement matures en 22 à 25 jours (Murdock et al., 2003). L'accouplement intervient souvent immédiatement après l'émergence.



Figure 2.5. Les stades larvaires (L2 à L4), pré-nympheaux, nymphaux et imaginal de *C. maculatus*. La larve L1, trop petite, n'est pas représentée (image tirée de Jaloux, 2004).

Callosobruchus maculatus présente deux morphes imaginaux, à savoir une forme voilière à faible fécondité, responsable de l'infestation dans les cultures et une forme non voilière à fécondité élevée, adaptée aux conditions des stocks (Utida, 1954). Ce sont notamment les conditions telles que la température, la qualité des graines ou la densité larvaire qui contrôlent le passage de la forme non voilière à la forme voilière (Ouédraogo et al., 1991).

Les conditions d'élevage au laboratoire

Les bruches utilisées dans le cadre des différentes expériences sont maintenues au laboratoire sur des graines de Niébé de la variété Back Eye California. Les graines provenant d'origines diverses ont été congelées avant leur utilisation pour éviter l'introduction dans les élevages d'un autre insecte phytophage ainsi que d'acariens entomophages nuisibles.

Des bruches adultes mâles et femelles ont été placés dans des boîtes en Plexiglas (17,5 x 11,5 x 3 cm) remplies à moitié de graines de Niébé dans une étuve en conditions contrôlées (30°C ; 25°C, L : D 12 : 12, 30% h. r). Dans ces conditions d'élevage, *C. maculatus* est polyvoltine et une génération se développe en 25 jours environ. Les graines ont été tamisées 17 à 19 jours après la ponte pour éliminer les animaux morts et séparer les graines en deux lots. Le premier lot contenant des hôtes au quatrième stade larvaire (L4) ou au stade nymphal a été prélevé pour les expérimentations, tandis que le deuxième lot d'individus a été replacé dans l'étuve jusqu'à l'émergence des bruches servant à produire une nouvelle génération d'hôtes.

Le parasitoïde : *Eupelmus vuilleti*

Description

Décrite pour la première fois par Crawford (1913) sous le nom de *Bruchicida vuilleti*, *E. vuilleti* est un hyménoptère ectoparasitoïde solitaire (voir **encart I.I**) des stades larvaires et nymphaux de différents coléoptères bruchidés des genres *Bruchidius*, *Callosobruchus* et *Caryedon* (Prevett, 1966 ; Rasplus 1986; Terrasse & Rojas-Rousse, 1986).

Les adultes présentent un dimorphisme marqué. Les mâles (1 à 4 mm) sont noir brillant et sont pourvus de grandes antennes. Ils peuvent effectuer des vols prolongés comme la plupart des eupelmidés (Clausen, 1940). Les femelles sont plus grandes (4 à 6 mm), de couleur bronze irisé de vert et sont pourvues d'un ovipositeur replié au repos dans un fourreau formé par la troisième paire de valves à l'extrémité de l'abdomen renflé (**Fig. 2.6**). Incapables d'envols ou de vols prolongés comme les mâles, elles sont cependant en mesure d'effectuer des sauts importants parfois suivis d'un amortissement plané de la descente qui semblent intervenir dans la réaction de fuite face à un danger.

Eupelmus vuilleti voit son aire de distribution limitée au continent africain (Ndoutoume-Ndong, 1996) et semble inféodée au climat sahélien ou soudanais (Amévoin et al., 2003). En Afrique de l'Ouest, *E. vuilleti* est souvent l'espèce majoritaire dans les cortèges parasitaires des ravageurs des stocks de Niébé (Huignard & Monge, 1991 ; Huignard, 1996).



Figure 2.6. Femelle adulte d'*Eupelmus vuilleti* sur une graine de Niébé.

L'accouplement

Les femelles diploïdes sont issues d'une reproduction sexuée, alors que les mâles haploïdes proviennent d'une parthénogenèse arrhénotoque. L'accouplement a généralement lieu immédiatement après l'émergence des femelles (Terrasse, 1986). Après avoir poursuivi la femelle pendant quelques secondes, le mâle l'aborde latéralement puis monte brusquement sur son thorax. Le mâle, dont la tête se situe alors juste au-dessus de celle de la femelle, entreprend des contacts antennaires. La femelle peut durant cette phase continuer à se déplacer, peu affectée dans son comportement par la présence du mâle. Ce dernier place ensuite l'extrémité postérieure de son abdomen sous celui de la femelle. Après une très courte copulation, le mâle retourne sur le thorax de la femelle qui le chasse rapidement (Cortesero, 1994).

Selon Terrasse (1986), les femelles *E. vuilleti* refusent tout autre accouplement et ne s'accoupleraient qu'une seule fois au cours de leur vie. Cependant, des expériences préliminaires de choix de partenaire ont permis de constater que les femelles pouvaient accepter plusieurs comportements d'accouplement de la part du même ou de différents mâles, même si les données ne nous permettent pas de dire si ces comportements se traduisent tous par un transfert de sperme dans la spermathèque des femelles (P. Pottier, observations personnelles).

L'exploitation de l'hôte

Les femelles d'*E. vuilleti* sont capables de localiser le Niébé via les odeurs dégagées par les gousses et les graines mûres, ainsi que par les odeurs dégagées par les larves, nymphes et fèces de bruches (Cortesero, 1994). Grâce à leurs antennes, elles peuvent ainsi déterminer la présence potentielle d'un hôte en détectant le chorion de l'œuf de bruche resté à la surface de la graine (Terrasse & Rojas-Rousse, 1986). Si celle-ci est infestée, les femelles peuvent accéder à l'hôte de deux façons :

- ❖ Elles peuvent forer leur propre orifice en perçant le tégument de la graine grâce au stylet de leur ovipositeur au-dessus de la chambre de l'hôte.
- ❖ Elles peuvent utiliser la galerie que la larve de l'hôte a foré au cours de son développement ou réutilisé un trou foré par une autre femelle.

Cette deuxième stratégie peut permettre à la femelle de réduire les coûts liés au comportement de forage qui représentent environ 15% du budget énergétique journalier des guêpes (Boisseau et al., 2017 ; **Fig. 2.7**). Cependant, même si les femelles semblent privilégier l'accès par la galerie creusée par l'hôte (Leveque, 1993), le forage du tégument directement à l'aplomb de la loge de l'hôte n'est pas rare (Jaloux, 2004).

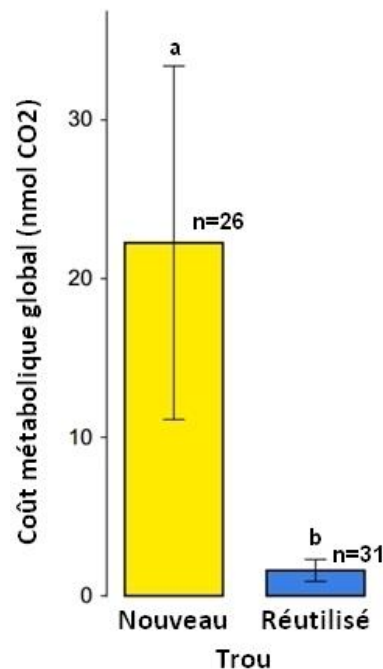


Figure 2.7. Comparaison des coûts métaboliques supplémentaires dû aux activités de forage par rapport à la production de CO₂ de référence. Les barres d'erreur indiquent les intervalles de confiance à 95%. Les lettres différentes au-dessus des barres indiquent des différences significatives (modifié d'après Boisseau et al., 2017).

Une fois inséré dans la loge, le stylet long et flexible de l'ovipositeur (Gauthier, 1996) permet aux femelles d'explorer le tégument de l'hôte et la paroi de la loge. *E. vuilleti* étant un parasitoïde solitaire (voir encart), la présence d'un œuf ou d'une larve d'une femelle conspécifique durant cette phase déclenche généralement chez la femelle un comportement d'ovicide ou de larvicide (van Alebeek, 1991 ; Leveque et al., 1993). L'ovicide consiste à percer l'œuf déjà présent sur l'hôte qui se vide (Nell & van Lenteren, 1982; Arakawa, 1987) tandis que le larvicide consiste à piquer plusieurs fois la larve, souvent accompagné d'injection de venin.

Comme chez de nombreuses espèces d'Eupelmidae (Delanoue & Arambourg, 1965 ; Askew, 1971), l'exploitation de l'hôte peut s'exprimer de deux façons différentes : la ponte ou la piqure nutritionnelle (host-feeding).

Pour se nourrir, les femelles élaborent un tube alimentaire à partir de l'hémolymphe de l'hôte et des sécrétions de l'ovipositeur, ce qui leur permet de consommer cette hémolymphe qui remonte à la surface de la graine par capillarité dans le tube. Grâce au host-feeding, elles obtiennent une grande quantité de protéines et de glucides utilisés pour la production d'œufs et les coûts énergétiques liés à la survie (Rivero & Casas, 1999 ; Rivero et al., 2001 ; Giron et al., 2002 ; Mondy et al., 2006).

Lors du processus de ponte, les femelles s'immobilisent et leur abdomen prend alors une forme triangulaire caractéristique. Elles piquent plusieurs fois l'hôte avec leur ovipositeur afin de le paralyser à

l'aide d'un venin (El Agoze, 1983) et déposent alors un œuf soit à la surface du tégument de l'hôte, soit à proximité sur la paroi de la loge. Les stades préférentiels de *C. maculatus* pour la ponte d'*E. vuilleti* sont des larves aux stades L4, prénymphe et nymphe (Nishimura, 1993). Si les conditions ne sont pas favorables, les femelles rejettent l'hôte et retirent leur ovipositeur. Après la ponte, les femelles recourbent et frottent la graine avec l'extrémité de leur abdomen puis elles reprennent leur position initiale. Elles déposent au cours de cette phase des hydrocarbures cuticulaires (CHC) indiquant que l'hôte est parasité. Des expériences ont montré que les femelles sont en mesure de détecter des différences dans les profils de CHC laissés par les parasitoïdes lors de l'exploitation de l'hôte et ensuite d'adapter le sexe des œufs lors de la ponte (Darrouzet et al., 2007, 2008, 2010).

Le développement

Les œufs d'*E. vuilleti* ont une forme ovoïde, mesurant environ 800 µm de long pour un peu moins de 200 µm et portant un pédicelle d'environ 350 µm (Cortesero, 1994). Un pédoncule beaucoup plus court (60 µm) et de faible diamètre se trouve à son pôle micropylaire (**Fig. 2.8** ; Gomez Alvarez, 1980). Les œufs sont lisses et translucides. Après s'être libérées du chorion de l'œuf, les larves se déplacent à la surface du tégument de l'hôte. Leur capsule céphalique pourvue de mandibules acérées leur permettent de se fixer sur le tégument de l'hôte durant la nutrition et jouent un rôle important lors des combats larvaires (Delanoue & Arambourg, 1965 ; Leveque et al., 1993). En effet, comme mentionné ci-dessus, *E. vuilleti* est un parasitoïde solitaire ; en cas de superparasitisme, les larves surnuméraires sont éliminées au cours de combats larvaires (Fisher, 1961 ; Leveque et al., 1993). Les larves L5 cessent de s'alimenter cinq jours après la ponte et la mue nymphale a lieu environ 3 jours plus tard.

En conditions d'élevage au laboratoire, l'émergence a lieu environ 16 à 17 jours après la ponte, les mâles émergeant un jour avant les femelles (van Alebeek, 1991).



Figure 2.8. Œuf d'*E. vuilleti* sur une larve de *C. maculatus*

Le statut reproducteur et le rôle des hormones

Eupelmus vuilleti est une espèce synovigénique : contrairement aux parasitoïdes proovigéniques, les femelles émergentes possèdent quelques œufs matures et en mûrissent d'autres tout au long de leur vie adulte (Jervis et al., 2001 ; Bernstein & Jervis, 2008). La maturation complète des ovocytes commence au stade nymphal et continue 1 à 2 jours après l'émergence, indépendamment de la présence de l'hôte (Bodin et al., 2009). Cependant, en absence prolongée de l'hôte, cette ovogenèse s'arrête et est remplacée par la résorption des ovocytes. Les femelles doivent donc se nourrir d'un hôte pour maintenir la production

d'œufs. Il a été démontré que les stérols issus de l'alimentation des adultes jouent un rôle crucial dans la viabilité des œufs, même s'il n'a pas d'incidence sur la quantité d'œufs produits (Mondy et al., 2006). Ils constituent également les précurseurs des ESH qui sont impliqués dans le contrôle de la reproduction des femelles d'*E. vuilleti*.

Des études antérieures suggèrent en effet que les ESH sont impliqués dans la régulation de la production d'œufs chez *E. vuilleti*. Les femelles actives d'un point de vue reproductif sont capables de synthétiser des ecdystéroïdes dans leurs ovaires, l'ecdysone étant la forme principale détectée par les méthodes de quantification hormonale (Bodin et al., 2007). Bien qu'une quantité non négligeable soit stockée dans les œufs (Mondy et al., 2006), l'ecdysone est sécrétée dans l'hémolymph et agit principalement en tant qu'hormone circulante (Bodin et al., 2007). Ces différents travaux ont également montré qu'un simple contact avec un hôte, qui représente à la fois un site de ponte et une source de nourriture, entraîne dans les deux minutes qui suivent une augmentation significative du taux d'ecdysone, conduisant à la maturation d'un nouvel œuf au bout de 24h (Bodin et al., 2007, 2009 ; Casas et al., 2009 ; Fig. 2.9).

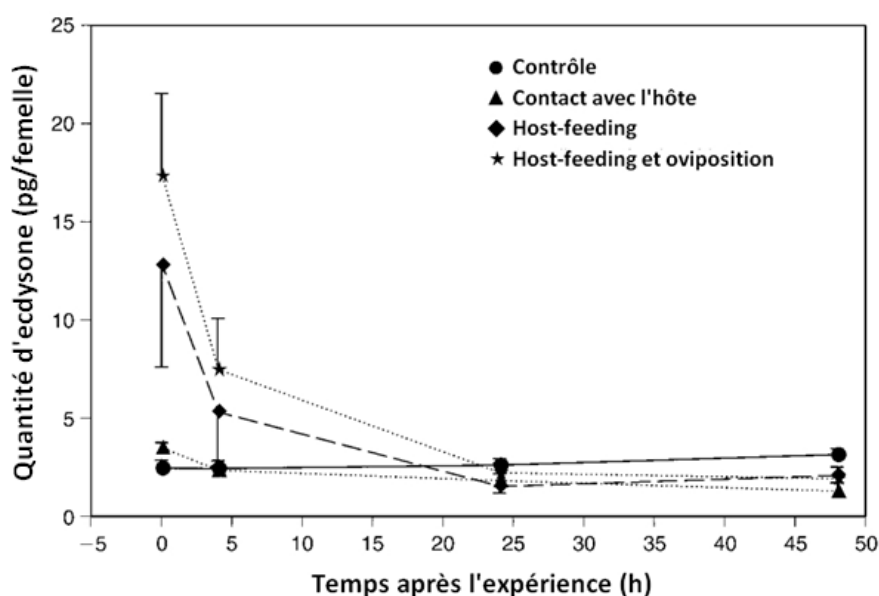


Figure 2.9. Quantité d'ecdysone (moyenne $\pm$ S.E.) dans les ovaires des femelles immédiatement, 4 h, 24 h, ou 48 h après la fin de l'expérience. Les femelles étaient soit privées d'hôte (contrôle), soit uniquement en contact avec un hôte, soit en condition d'host-feeding sur un hôte couplé ou non avec un comportement d'oviposition (adapté d'après Casas et al., 2009).

La compétition entre femelles pour l'accès à un hôte

Dans les greniers traditionnels de stockage de Niébé, les graines parasitées par les bruches peuvent être abondantes et les populations de guêpes parasitoïdes peuvent atteindre une forte densité. Cela engendre une compétition intraspécifique importante entre les femelles pour l'accès aux hôtes.

Lorsque plusieurs femelles sont simultanément présentes sur un patch, elles détectent la présence d'une femelle conspécifique en levant leurs antennes en direction de leur adversaire (Fig. 2.10). Elles ont alors tendance à protéger l'hôte qu'elles exploitent en exprimant des comportements agonistiques envers leur compétitrice (Mohamad et al., 2010). Les femelles arrêtent généralement leur séquence de ponte et peuvent soit avoir un comportement défensif, en donnant des coups de pattes à l'adversaire sans sortir

leur ovipositeur de la graine, soit attaquer. Dans ce cas, les guêpes frappent généralement leur adversaire avec leur tête, la poursuivent pour la chasser hors de la graine et parfois même montent sur elle (A. Mathiron, observations personnelles). Comme chez de nombreuses espèces de parasitoïdes, les combats entre femelles *E. vuilleti* ne sont cependant pas létaux (Batchelor et al., 2005 ; Goubault et al., 2007a ; Mohamad et al., 2013).



Figure 2.I0. Deux femelles d'*E. vuilleti* se faisant face sur une graine de Niébé parasitée par un hôte *C. maculatus*.

Chez *E. vuilleti*, les femelles ne semblent protéger l'hôte que pendant la phase d'exploitation (i.e., oviposition et/ou host-feeding). En effet, contrairement à certaines espèces de parasitoïdes grégaires connues pour protéger leur progéniture (Pérez-Lachaud et al., 2002 ; Goubault et al., 2007b ; Bentley et al., 2009), les mères d'*E. vuilleti* ne protègent pas leur progéniture pendant une période prolongée (Mohamad et al., 2010, 2012). L'absence de gardiennage de l'hôte chez cette espèce peut venir du fait que les parasitoïdes solitaires ne protègent qu'une progéniture à la fois, ce qui pourrait réduire les bénéfices liés à la protection l'hôte. D'autres espèces de guêpes parasitoïdes solitaires qui défendent les hôtes au cours de leur exploitation tendent également à les abandonner peu après la ponte (e.g., *Pachycrepoideus vindemmiae* : Goubault et al., 2007a ; *Dinarmus basalis* : Mohamad et al., 2013).

Les conditions d'élevage au laboratoire

La souche d'*E. vuilleti* étudiée a été développée à partir d'individus émergeant de graines de Niébé infestées achetées sur le marché de Dapaong, au nord du Togo, où le Niébé est cultivé en importante quantité. Dans cette région, *E. vuilleti* est fréquemment observée exploitant différentes espèces d'hôtes présentes simultanément dans les greniers : *C. maculatus*, *C. rhodesianus* ou *Bruchidius atrolineatus* (Tchassanti, 1995). La souche est maintenue au laboratoire dans des conditions décrites ci-dessous.

Les populations de parasitoïdes mâles et femelles sont maintenues dans des cages plexiglas (40 x 30 x 30 cm ; **Fig. 2.II**) placées dans une étuve selon des conditions contrôlées de température (32 : 26°C), de photopériode (12 : 12 h ; L-D) et d'hygrométrie (60 ± 10 %). Ces cages contiennent un abreuvoir composé d'un réservoir et d'un coton imbibé d'une solution d'eau sucrée, et une quantité variable, selon les besoins, de boîtes de pétri remplies de graines de Niébé infestées par *C. maculatus* majoritairement au stade L4, pré-nympe ou nymphe. Les graines infestées sont renouvelées toutes les 48h. Les boîtes contenant les hôtes parasités sont retirées des cages d'élevage puis sont mises dans une étuve sous les mêmes conditions abiotiques, jusqu'à l'émergence des parasitoïdes adultes. La quantité d'individus nécessaires aux expériences est prélevée tandis qu'une partie des adultes émergents est réintroduite dans la cage à population.

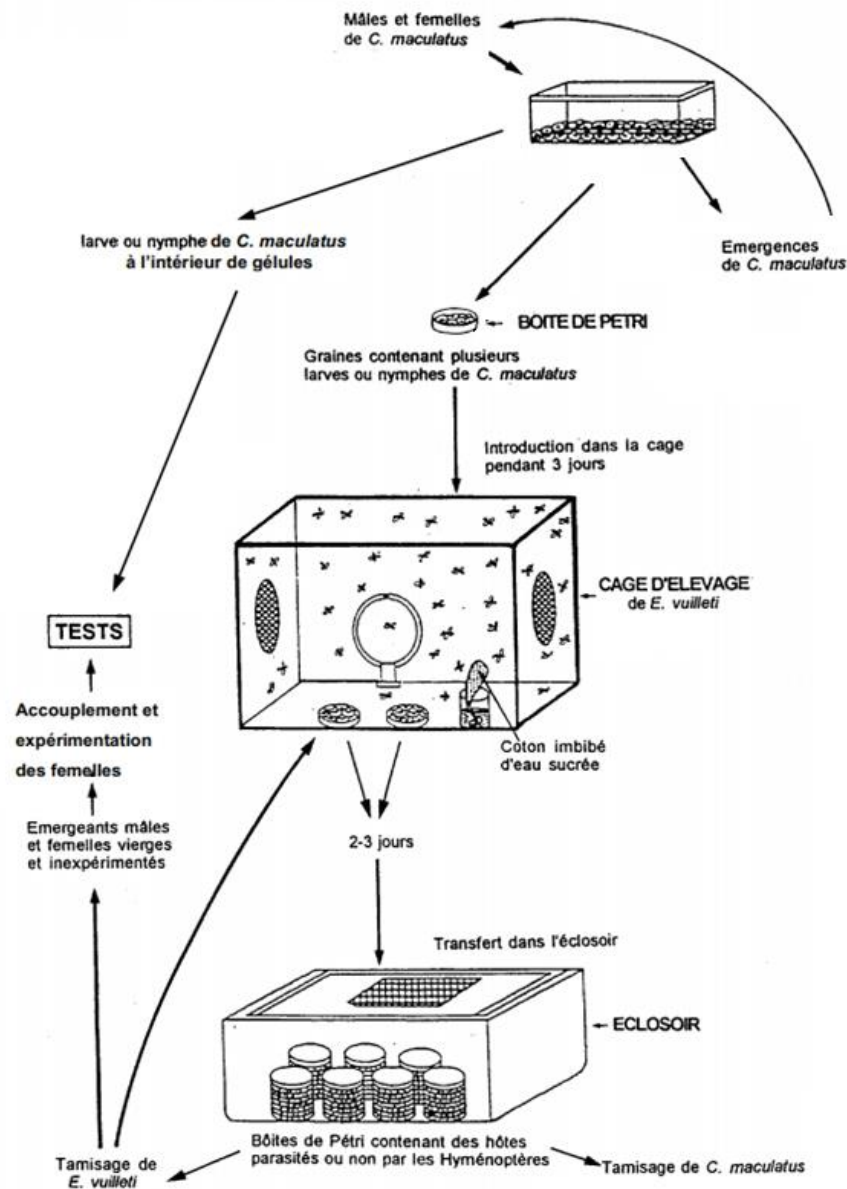


Figure 2.II. Cage d'élevage des parasitoïdes (modifié à partir de Jaloux, 2004)

Les femelles d'*E. vuilleti* utilisées pour les différentes expériences sont préparées trois jours avant les observations comportementales. Elles sont isolées à l'émergence pour éviter une expérience de compétition avant les manipulations. Chaque femelle est ensuite introduite dans une boîte de pétri (diamètre : 8.5 cm ; hauteur : 2.7 cm) contenant une boule de coton humidifié ainsi qu'un hôte au stade L4 ou nymphal (selon le type de l'expérience) contenu dans un système artificiel de gélule en gélose transparent standard (encart 2.I), ceci afin de lui donner une expérience de ponte.

Encart 2.I. Le système artificiel de gélule

Dans le système tritrophique étudié, le développement de l'hôte, le dépôt et le développement des œufs des parasitoïdes sur leur hôte respectif se déroulent à l'intérieur des graines de Niébé. A moins d'ouvrir ces dernières, il est donc impossible d'observer la présence d'un œuf de parasitoïde ou de contrôler véritablement le stade de développement de l'hôte sur lequel les femelles ont pondu.

Afin de savoir, sans disséquer la graine, si le comportement d'oviposition exprimée par les guêpes s'est traduit par la ponte d'un œuf tout en ayant la possibilité de contrôler la taille et le stade de développement de l'hôte, nous avons utilisé un dispositif artificiel permettant de mimer le plus fidèlement possible l'organisation au sein d'une graine de Niébé. Ce système particulier a été mis au point par A. M. Cortesero et G. Doury et consiste à modifier une gélule pharmaceutique en gélose transparente de 2 cm de long et 0,6 cm de diamètre (**Fig. 2.12A**). Pour recréer le volume que représente la loge creusée par l'hôte à l'intérieur de la graine, l'extrémité arrondie de la partie la plus longue (socle) est légèrement enfoncée de façon à obtenir une petite cupule concave (**Fig. 2.12B**). La seconde partie plus courte de la gélule (capot), est percée de plusieurs orifices permettant le passage de l'air (**Fig. 2.12C**). Un hôte sain, c'est à dire une larve L4 ou une nymphe de *C. maculatus*, est déposé au centre de cette cupule (**Fig. 2.12D**). De façon à clore l'espace dans lequel se trouve l'hôte, le capot est placé sur la cavité et l'hôte (**Fig. 2.12E**).

Même si le nombre d'œufs pondus est légèrement plus faible sur les hôtes à l'intérieur de gélules (Damiens et al., 2001), des études précédentes ont montré qu'après une période d'adaptation, les femelles parasitoïdes se comportent de façon similaire en présence d'hôtes à l'intérieur de graines ou de gélules (Gauthier & Monge, 1999 ; Jaloux et al., 2004).

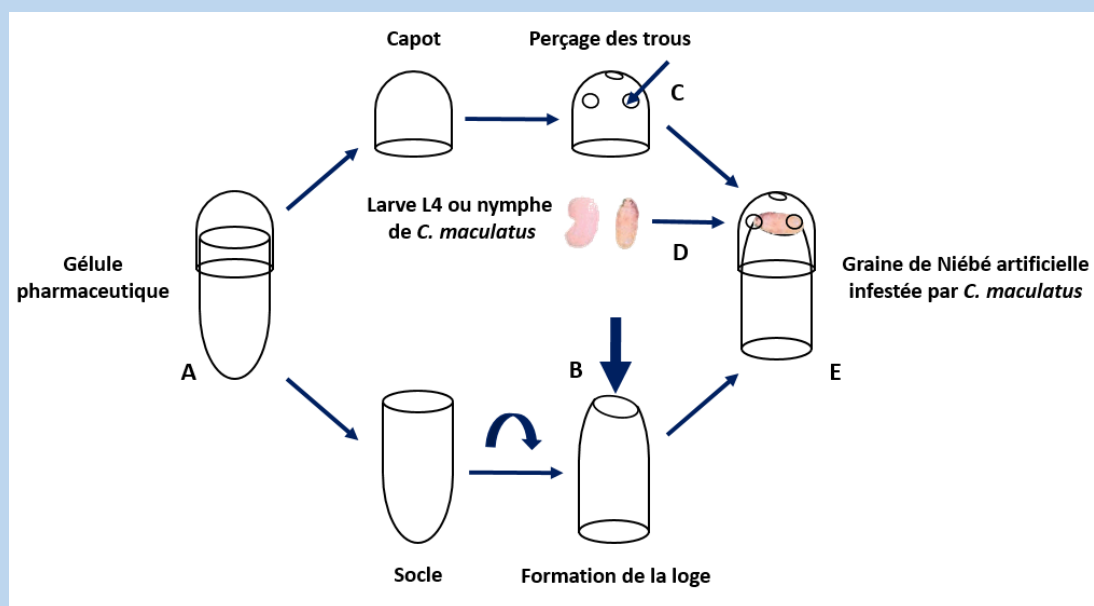


Figure 2.12. Fabrication d'un système artificiel mimant une graine de niébé à partir d'une gélule pharmaceutique

Durant les premières 24h, un mâle est également ajouté dans chaque boîte pour permettre aux parasitoïdes de s'accoupler et de stimuler l'ovogenèse des femelles (Terrasse & Rojas-Rousse, 1986). Pour être en mesure de les distinguer lors des observations, les femelles sont placées la veille pendant quelques secondes au congélateur afin de ralentir leur activité locomotrice et elles sont ensuite marquées avec de la gouache (rouge ou jaune) sur la partie dorsale du thorax.

Partie II

Les facteurs influençant les comportements au cours des conflits

Chapitre 3 : Effet de la valeur de l'hôte

Comme nous l'avons abordé dans le chapitre I, l'agressivité des individus et l'issue des combats peuvent être influencées par l'asymétrie qui existe entre les adversaires en ce qui concerne la valeur de la ressource convoitée. Cependant peu d'études ont exploré simultanément l'effet de la composante objective et subjective de la RV dans un contexte de compétition intraspécifique directe, et les auteurs ont trouvé des effets additifs sur l'intensité des combats.

Nous avons donc ici mis au point une expérience visant à mesurer la différence de bénéfices en termes de fitness que les femelles d'*E. vuilleti* obtiennent lorsqu'elles pondent sur des hôtes au 4^{ème} stade larvaire ou au stade nymphal, puis nous avons testé si l'agressivité et la résolution des conflits entre femelles étaient influencées par la qualité de l'habitat précédent (c'est-à-dire la valeur subjective) et / ou la valeur objective de l'hôte lors des conflits.

Nous avons tout d'abord démontré que les larves de *C. maculatus* avaient une valeur objective plus importante que les nymphes, car les guêpes juvéniles qui s'étaient développées sur des larves de *C. maculatus* avaient une masse corporelle plus élevée. Nous avons ensuite montré que la valeur objective (qualité de l'hôte) et subjective (charge en œufs et qualité de l'habitat initiale) de l'hôte n'influençaient pas les décisions de ponte des femelles, mais interagissaient pour moduler l'agressivité et l'issue des conflits.

Nos résultats mettent pour la première fois en évidence l'effet d'interactions entre différentes composantes de la RV sur les comportements des animaux lors d'un conflit, et soulignent ainsi la grande complexité des relations existantes entre ces composantes.

"The more we value things, the less we value ourselves"

Bruce Lee

Chapitre 3

Effet de la valeur de l'hôte

Let the most motivated win:
Resource value components affect contest outcome in a parasitoid wasp

Mathiron Anthony G.E., Pottier Patrice & Goubault Marlène. Behavioral Ecology (2018), 29(5), 1088–1095

Summary

Studying physical contests for indivisible resources is a major theme in behavioral ecology. Intensity (aggressiveness) and outcome of such contests may be influenced by individual abilities to gain and keep the resource (resource-holding potential, RHP), but also by the value they place in the resource (resource value, RV). Contestants can assess resource quality directly (objective RV) or estimate it according to their physiological status and their experience (subjective RV). In some parasitoid species, adult females fight for hosts on which they lay eggs and feed. Here, we studied contests between 2 females of the solitary parasitoid *Eupelmus vuilleti* when exploiting simultaneously a host: a fourth instar larva or a pupa of the cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus*. We first demonstrated that fourth instar larvae represent a resource of higher objective RV because offspring that developed on such hosts were heavier. We then showed that both objective (host quality) and subjective (initial egg load and habitat quality) RV did not influence oviposition decisions, but interacted to affect aggressiveness and contest outcome. Females won more frequently when they had more mature eggs than their opponent, but this effect was less pronounced when fighting for a high-quality host. In addition, females from high-quality habitat were more aggressive and more frequently won contests over low-quality hosts, whereas females from low-quality habitat were more aggressive and more frequently won contests over high-quality hosts. This experiment thus highlights the complex relationships existing between key factors that affect animals' conflict resolution.

Key words: Aggressiveness, Conflict resolution, *Eupelmus vuilleti*, Oviposition decision.

Introduction

Intraspecific competition for access to indivisible resources is common in the animal kingdom and has therefore received major attention from behavioral ecologists (Maynard Smith & Parker, 1976; Kokko, 2013). In a wide range of species, pairs of individuals compete via agonistic contest behaviors for food, mates, or territories (Huntingford & Turner 1987; Archer, 1988; Hack, 1997). Even if most of these physical contests occur between males, they are also observed between females, between juveniles and adults, between parents and offspring, or between and within social groups (Riechert, 1998).

Game theory models have identified factors expected to influence the outcome of such dyadic contests (Maynard Smith, 1982). A common predictor is the asymmetry that exists between contestants in terms of their ability to gain and hold access to the resource (resource-holding potential, “RHP”; Maynard Smith, 1974; Parker, 1974). The RHP of an individual usually relates to intrinsic factors such as its body size or mass (Hack, 1997; Riechert, 1998; Archer & Thanzami, 2007), its physiological status, or the size of its weapons (Huntingford & Turner, 1987; Andersson & Iwasa, 1996). The individual winning the resource is typically the contestant with the higher RHP (Parker, 1974; Maynard Smith, 1982; Elias et al., 2008; Arnott & Elwood, 2009).

Asymmetries in the value of the resource (hereafter “RV”) between contestants play an additional role in influencing fighting intensity and determining contest outcome (Maynard Smith & Parker, 1976; Hammerstein, 1981; Enquist & Leimar, 1987; Arnott & Elwood, 2008). Such a phenomenon has been observed in insects (Brown et al., 2007), arthropods (Gherardi, 2006), birds (Ewald, 1985), amphibians (Verrell, 1986), and fishes (Lindström, 1992), with the individual having a higher RV generally winning the contest (Parker, 1974; Maynard Smith, 1982; Kokko, 2013). Resource value (RV) can firstly depend on properties intrinsic to the resource (the “objective” RV) which can be detected by contestants and yield a certain fitness benefit if obtained (Gherardi, 2006; Goubault et al., 2007a). For example, a piece of food of a large size or high-nutritive value represents a resource providing a high fitness advantage (Chancellor & Isbell, 2008), and aggressiveness during contests for such a resource may therefore be elevated (Gilley, 2001; Stockermans & Hardy, 2013). Secondly, differences between contestants in their physiological status and experience of resource availability may also change the value of a given resource, causing individuals to take more risks, fight harder, and spend more energy to acquire or defend it. Thus, subjective RV (Enquist & Leimar, 1987) refers to the value that each contestant places on the resource, independent of its objective value. For example, individuals deprived of a particular resource (e.g. mate or food) are predicted to value that resource more highly than if they had recently had access to it. They should fight more, with a higher probability of winning contests (Hurd, 2006; Brown et al., 2006, 2007; Dissanayake et al., 2009). In some cases, high RV can help individuals to overcome inferior RHP (Ewald, 1985; Verrell, 1986; Gherardi, 2006).

In parasitoid wasps, larvae depend entirely on the host for their development, as they feed exclusively on its tissue until they emerge as adults. Fitness of individuals therefore strongly depends on the value of the host and, thereby, on the oviposition decisions made by their mother (Godfray, 1994; Henry et al., 2005; Todoroki & Numata, 2017). In many species, oviposition behavior is size-, age-, or stage-specific (Heinz & Parrella, 1989; Walde et al., 1989; Kidd & Jervis, 1991; Godfray, 1994; Chau & Mackauer, 2001; Cebolla et al., 2017). Thus, oviposition is usually directed toward larger, older, or later-stage hosts, as the size of offspring resulting from oviposition on larger hosts is often higher than that from smaller, younger, or earlier-stage hosts (Charnov, 1985; Lacoume et al., 2006). Oviposition on low-quality hosts is only predicted to occur when egg load is high or when high-quality hosts are rare (McGregor, 1997).

Lifetime reproductive success is also maximized by accepting low-quality hosts for oviposition only when the probability of encountering high-quality hosts is low (e.g. see Mangel & Roitberg, 1989; Roitberg et al., 1992).

Moreover, hosts represent a limited resource for which female parasitoids can compete to lay their eggs. Because outcome of the competition directly influences their fitness (Petersen & Hardy, 1996; Field & Calbert, 1999; Batchelor et al., 2005), it is not surprising that physical contests between females for host access have already been observed in some parasitoid species, such as *Venturia canescens* (Hughes et al., 1994), *Trissolcus basalis* (Field & Calbert, 1999), *Eupelmus vuilleti* (Mohamad et al., 2010), *Dinarmus basalis* (Mohamad et al., 2013), and several bethylids (Petersen & Hardy, 1996; Pérez-Lachaud et al., 2002; Goubault et al., 2007a, 2007b). Several factors that modify the RHP and RV of contestants have been shown to influence aggressiveness and conflict resolution. For example, larger females (i.e. with a higher RHP) are more likely to win access to the host (Petersen & Hardy, 1996; Goubault et al., 2007a). Regarding objective RV, females defending larger hosts or more vulnerable brood usually have a higher probability of winning (Humphries et al., 2006; Goubault et al., 2007b). The quality of the habitat previously experienced by females can also influence females' subjective host value and therefore contest outcome. For example, females that have experienced a habitat poor in hosts should value hosts more and win contests more often than females that have experienced high host availability (Mohamad et al., 2010). However, the opposite result was observed in *P. vindemmiae*, with rich-habitat females being more likely to win host access than poor-habitat females (Goubault et al., 2007a). Authors of this study hypothesized that females from rich habitat had potentially greater opportunities to acquire energy through host feeding during exploitation of previous patches, resulting in greater host-protection abilities (i.e. higher RHP). Finally, females with more mature eggs present in their ovaries (i.e. with a greater "egg load") win contests more frequently in several species (Stokkebo & Hardy, 2000; Mohamad et al., 2010; but see Goubault et al., 2007a). Thus, greater egg load has been hypothesized to enhance the value that females place on the hosts, with females having more mature eggs being more ready to oviposit. Nevertheless, little is known about the influence of both objective and subjective RV on contest outcomes and aggressiveness, and studies have been studied mainly in only 2 gregarious parasitoids, *Goniozus nephantidis* (Humphries et al., 2006) and *Goniozus legneri* (Stockermans & Hardy, 2013).

In the present study, we therefore tested the relative effect of both objective and subjective host value on 1) female oviposition decisions and 2) contest outcomes and aggressiveness, using *E. vuilleti* Crawford (Hymenoptera: Eupelmidae). *E. vuilleti* is a solitary (i.e. only one juvenile can develop per host, supernumerary offspring being killed during larval competition) ectoparasitoid. Females parasitize and feed upon larvae and pupae of *Callosobruchus maculatus* (Fab) (Coleoptera: Bruchidae), which infest seeds of *Vigna unguiculata* (L.) Walp (Fabaceae; Terrasse & Rojas-Rousse, 1986). In sub-Saharan Africa, cowpea seeds are traditionally stored in granaries where populations of both hosts and parasitoids can reach high densities, leading *E. vuilleti* females to experience intense intraspecific competition. When several females are simultaneously present on a patch, they tend to protect the host that they exploit by displaying agonistic behaviors towards conspecific competitors (Mohamad et al., 2010). Moreover, Terrasse and Rojas-Rousse (1986) have shown that the number of eggs laid by females varied according to the age of hosts; wasps laid fewer eggs on fourth instar (hereafter: "L4") larvae than on pupae. Although this could suggest that later-stage hosts represent higher-quality resource, no work has directly studied the resulting fitness benefits for females.

We designed a first experiment to measure the difference in fitness returns that females obtain when ovipositing on larval and pupal hosts (i.e. the objective RV, measured in terms of offspring survival,

developmental time, and body mass at emergence). We expected them to gain higher fitness by laying eggs on later-stage/ larger hosts. We further studied the role of females' previous habitat quality on oviposition decisions. In a second experiment, we tested whether aggressiveness and resolution of conflicts between females were affected by the previous habitat quality (i.e. subjective RV) and/or the objective value of the host during contests. We expected that individuals with a low-quality oviposition experience would place a higher value in high-quality hosts and therefore would be more aggressive and would ultimately be more likely to win contests for those hosts.

Material and Methods

Laboratory breeding

We collected *E. vuilleti* on cowpea seeds from crop fields in Togo in 2007. We then bred parasitoids in the laboratory (IRBI, University of Tours, France) on larvae and pupae of *C. maculatus*, according to the methodology described by Jaloux et al. (2004). We carried out all experimental procedures in a climate room at 30 °C and 12:12 h light: dark. We dissected cowpea seeds to collect hosts for *E. vuilleti*, and we then individually placed them in a standard transparent gelatin capsule (length: 2 cm, diameter: 0.6 cm). This system mimics a cowpea seed while not altering the oviposition behaviour of females and allows for easier observation of the number of eggs laid by females (Gauthier & Monge, 1999). Previous studies have shown that after a period of adaptation, parasitoid females behave in the same manner in the presence of hosts inside seeds or capsules (Gauthier & Monge, 1999; Jaloux et al., 2004), although the number of eggs are slightly lower on hosts inside capsules (Damiens et al., 2001). Under such conditions, eggs hatch during the day following oviposition, whereas adults emerge between 20 to 24 days later (Mathiron A, personal observation).

Females used in the following experiments emerged in isolation, preventing them from having any previous experience of oviposition and competition. We individually placed them in petri dishes (diameter: 8.5 cm; height: 2.7 cm), provided with cotton soaked in water for the 3 days preceding the experiments. *E. vuilleti* is a synovigenic parasitoid species: emerging females possess a few mature eggs and they mature additional ones throughout their adult life. Thus, if females can lay eggs from the day of their emergence, their oviposition activity increases over time and is maximum 3 days later (Jaloux et al., 2004). To stimulate oogenesis (Terrasse & Rojas-Rousse, 1986), we also gave one male to females during the first day.

Experiment I: effect of objective and subjective RV on oviposition decisions and female fitness

To investigate the influence of objective and subjective RV on female oviposition decisions, we randomly assigned 40 wasps to one of 2 “oviposition pre-experiences”: at their emergence, we supplied 20 females with one L4 larva replaced daily and 20 other females with 1 pupa, also replaced daily. When they were 3 days old, we deprived wasps of host for at least 2 h before the start of the experiment so that they were more ready to oviposit. We then individually introduced each female into a new petri dish supplied with 2 types of hosts, 1 L4 larva and 1 pupa in cellulose capsules, for 3 h. We noted the first

host that females were in contact with and on which host they oviposited first. We removed females after the end of the experiment. To further determine the fitness benefits provided by both types of hosts, we let the offspring develop after checking that a single egg was present (supernumerary eggs were removed). We then followed the development of each offspring until they emerge as adults: we noted their mortality, development time, and body mass at emergence using an electronic balance (Ohaus Discovery® model, accuracy: 0.01 mg).

Experiment 2: effect of objective and subjective RV on aggressiveness and contests outcome

To investigate the influence of objective and subjective RV on female competitive behaviors, we randomly assigned females at their emergence to 2 different oviposition pre-experiences: we supplied them with either 1 L4 larva or 1 pupa of *C. maculatus*, replaced daily for 3 days. To allow wasp identification during contests, we marked them on the dorsal part of their thorax with a dot of bright-yellow or bright-red acrylic paint. Data showed that paint color did not affect contest outcomes (wasps painted red won 34 of 63 contests; binomial test: $P = 0.61$). As in Experiment 1, we deprived females of hosts for at least 2 h before the start of the experience. At the beginning of the observation, we simultaneously introduced 2 wasps into an apparatus consisting of a plastic block made of 3 chambers linked by a slot (Petersen & Hardy, 1996).

We ran all contests between 2 females with different oviposition pre-experiences (i.e. either with L4 larvae or pupae), challenging for either 1 L4 larva ($n = 29$) or 1 pupa ($n = 34$) located in gelatine capsules and previously placed in the central chamber of the contest arena. Contestants were of the same age (3 days old), marked with different colors and visually matched for size (post-test data analysis confirmed that contestants of a same dyad did not differ significantly in body mass; Student paired-test: $t = 0.57$, $P = 0.57$). Both females could freely move into the entire contest block. Observations lasted 1 h or were stopped when either one of the female exited the central chamber or neither of the females touched the host or displayed any agonistic interactions for at least 2 min.

During all tests, we recorded the oviposition and the agonistic behaviors displayed by each female. Upon detection of a conspecific competitor (females raised their antennae in the direction of their opponent), females frequently interrupted their behavioural oviposition sequence (Mohamad et al., 2010). They can either simply kick their opponent with their legs without taking their ovipositor out of the capsule (defensive behavior) or this can escalate to a full attack, in which case one female generally chases her opponent away from the capsule, hits her with her head, and mounts her. This chasing, hitting, and mounting can lead the loser to leave the central chamber of the arena. We therefore considered only these behaviors, collectively termed as “attack,” in the rest of the study. When both females of a dyad stayed in the central chamber during the whole time of observation, we determined the winning female as the ovipositing one.

We immediately froze wasps at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ after the experiments. We weighed them using an electronic balance (Ohaus Discovery® model, accuracy: 0.01 mg) and we then dissected them to count the number of mature eggs in their abdomen (i.e. egg load). Finally, after each contest, we counted the number of eggs laid on the host by the winning female to determine their egg load before the contests (i.e. initial egg load).

Statistical analysis

We performed data analyses with the software Rstudio (RStudio Team, 2016), using $\alpha = 0.05$. Our general approach was to use, when possible, parametric analyses in which the assumed distribution of residuals was matched to the data rather than transforming data to fit standard assumptions (Wilson & Hardy, 2002; Briffa et al., 2013). However, we used nonparametric tests when conditions of application were not verified.

Experiment I

We first checked that initial egg load was not significantly different between females that had previously oviposited on L4 larvae (mean egg load $\pm$ SE: 4.9 ± 0.5) and those that had experienced oviposition on pupae (egg load: 5.2 ± 0.4 ; Student test: $t = -0.54$, $P = 0.59$). We defined female oviposition decisions as a binary response: 0 = the female first oviposited on the larva and 1 = the female first oviposited on the pupa. We then ran a generalized linear model (GLM) assuming a binomial distribution of errors to determine if female oviposition decisions were influenced by initial egg load, oviposition pre experience, and the type of host first encountered. Moreover, we defined offspring's status as a binary response: 0 = offspring died before reaching adulthood and 1 = offspring reached adulthood. We tested the development time of progeny on both host types by using a Cox proportional hazards regression model, which allows for censored data. We subsequently performed a generalized linear mixed model (GLMM) with a binomial error distribution to investigate the influence of host type on offspring mortality during development, fitting mother identity as a random factor. Finally, we used a linear mixed-effects model (LMM) to test the influence of the mother's body mass and the type of host on the body mass of offspring at their emergence, again fitting mother identity as the random factor. As only 2 males emerged in our experiment, we decided to discard these data from the analyses because males usually emerge before females and are smaller (Rojas-Rousse et al. 2005; Mathiron A, personal observation).

Experiment 2

We verified that the initial egg load did not differ between females that had previously oviposited on L4 larvae (mean egg load $\pm$ SE: 4.4 ± 0.4) and those that did on pupae (egg load: 5.3 ± 0.6 ; Mann–Witney test: $U = 1832.5$, $P = 0.45$). The number of attacks were positively correlated between both females of the same contest (Spearman rank correlation test: $r_s = 0.47$, $P < 0.001$). We therefore chose to use relative attack ratios of focal females in our analyses, calculated as the following ratio: 'number of attacks of the focal female / total number of attacks during contest (i.e. attacks of the focal female + that of her opponent)'. We performed a GLM with a quasi-binomial error distribution to explore the influence of contestants' difference in egg load, oviposition pre-experience and host quality on the relative attacks of focal females. We finally ran a GLM assuming a binomial error distribution to explore the influence of initial egg load difference between contestants (i.e. initial egg load of the focal female minus that of her opponent), oviposition pre-experience, and host quality on contest outcomes. To run this analysis, we randomly assigned one of the 2 females of each replicate as the focal female, using the ALEA function of Microsoft Excel and we defined contest outcome as a binary response: 0 = the focal female lost and 1 = the focal female won.

Results

Experiment I: effect of objective and subjective RV on oviposition decisions and female fitness

Oviposition decisions

Neither initial egg load and oviposition pre-experience nor their interaction affected female oviposition decisions (**Table 3.I**). However, analyses showed that the first host chosen by the female for oviposition was the first host they have encountered (**Table 3.I**).

Table 3.I. Effect of females' initial egg load, oviposition pre-experience and the type of the first encountered host on their oviposition decisions.

Factors affecting females' oviposition decisions	d.f.	Estimates	G	<i>P</i>
Intercept		0.033		
Initial egg load	1	-0.42	1.27	0.26
First host (pupa)	1	21.53	44.03	< 0.001
Pre-experience (pupae)	1	-21.6	1.17	0.28
Initial egg load x first host (pupa)	1	0.42	0	1
Initial egg load x pre-experience (pupae)	1	0.42	0	1
First (pupa) x pre-experience (pupae)	1	21.6	0	0.99
Initial egg load x first host (pupa) x pre-experience (pupae)	1	-0.42	0	1
Residuals	32			
Total	40			

P values of significant explanatory variables are highlighted in bold font.

Female fitness

Statistical analyses showed that the type of host on which daughters developed did not affect neither their development time (Cox proportional hazards regression model: Likelihood ratio test = 2.64, $P = 0.10$) nor their mortality during development (GLMM: $\chi^2 = 1.402$, $df = 1$, $P = 0.24$). There was no interactive effect of host type and mother body mass on the body mass of daughters at their emergence. However, their body mass varied with host type: daughters were significantly larger when they developed on a L4 larva than on a pupa (LMM: $\chi^2 = 11.24$, $df = 1$, $P < 0.001$; **Fig.3.I**).

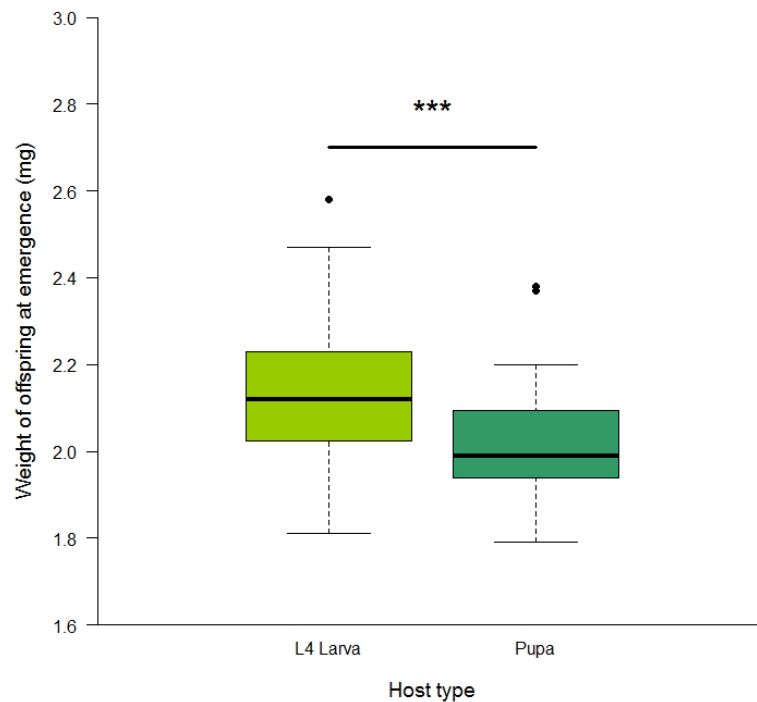


Figure 3.1. Body mass of *E. vuilleti* daughters at their emergence from a L4 larva (n = 31) or a pupa (n = 27).
***: $P < 0.001$.

Experiment 2: effect of objective and subjective RV on aggressiveness and contest outcome

The relative number of attacks displayed by the focal females was significantly influenced by interaction between pre-experience oviposition and host quality, whereas no other interaction was significant (**Table 3.2**). Females with a L4 larvae oviposition pre-experience attacked significantly more when the contested host was a pupa than a L4 larva. In contrast, females with an oviposition pre-experience on pupae attacked significantly more when competing for a L4 larva than a pupa (**Fig. 3.2.a**).

Table 3.2. Effect of initial egg load difference, oviposition pre-experience and host quality on females' relative number of attacks.

Factors affecting females' aggressiveness	d.f.	Estimates	F	P
Intercept		-1.94		
Egg load diff.	1	0.01	1.064	0.31
Pre-experience (pupae)	1	1.83	0.24	0.63
Host quality (pupa)	1	1.61	0.0063	0.94
Egg load diff. x pre-experience (pupae)	1	-0.025	0.012	0.91
Egg load diff. x host quality (pupa)	1	0.17	1.15	0.29
Pre-experience (pupae) x host quality (pupa)	1	-2.86	9.73	< 0.01
Egg load diff. x pre-experience (pupae) x host quality (pupa)	1	0.089	0.047	0.83
Residuals	55			
Total	63			

P values of significant explanatory variables are highlighted in bold font.

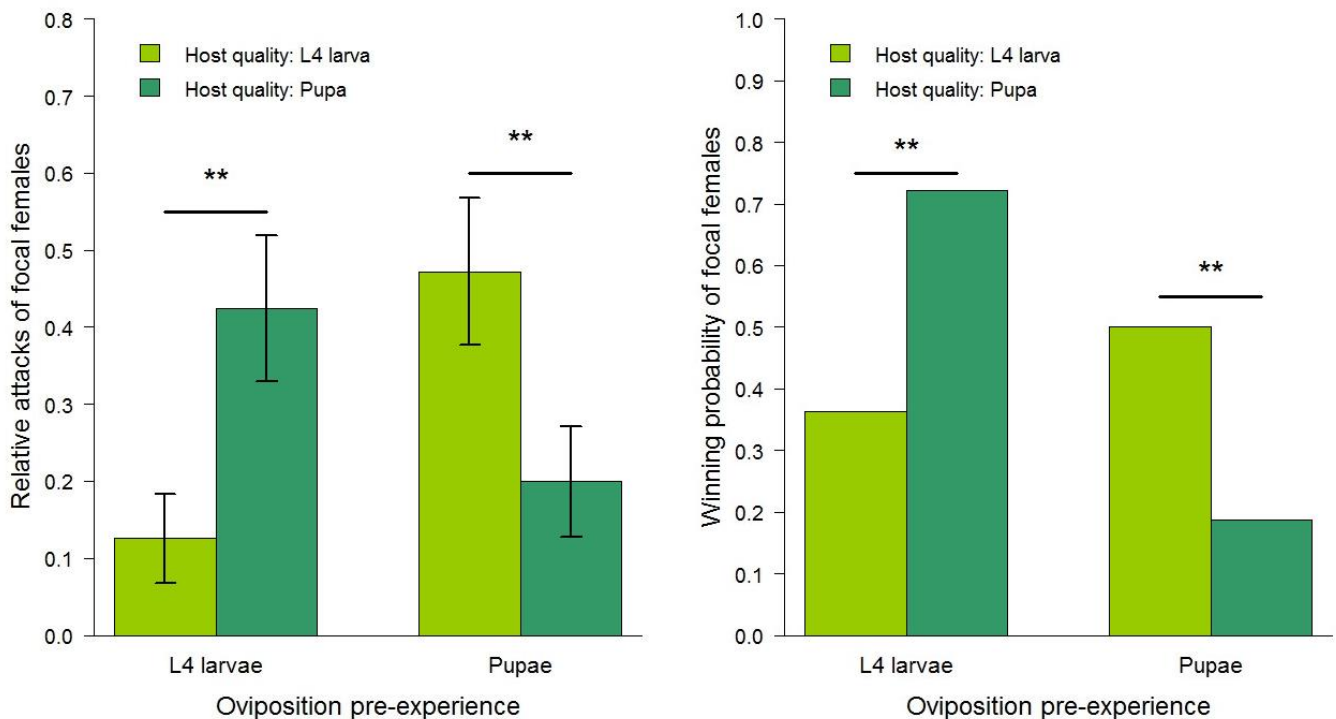


Figure 3.2. (a) Mean ($\pm$ SE) relative number of attacks displayed by focal females with different oviposition pre-experiences when fighting for a L4 larva (gray bars; $n = 29$) or a pupa (dark gray bars; $n = 34$). (b) Probability of focal females with different oviposition pre-experiences winning a contest when fighting for a L4 larva (gray bars; $n = 29$) or a pupa (dark gray bars; $n = 34$). ** $P < 0.01$

The probability of a focal female winning was significantly influenced by interactions between the difference in initial egg load and host quality and between oviposition pre-experience and host quality, but not by the interaction between the difference in initial egg load and oviposition pre-experiences (**Table 3.3**). Females had higher probabilities of winning contests when they had more mature eggs than their opponent, but this effect was less pronounced when the contested host was a L4 larva. Moreover, the probability of a focal female with pupae oviposition pre-experience winning a contest was significantly higher when competing for a L4 larva, whereas females that had previously experienced oviposition on L4 larvae had a higher probability of winning contest for a pupa (**Fig. 3.2.b**).

Table 3.3. Effect of the difference in females' initial egg load, oviposition pre-experience and host quality on contest outcomes.

Factors affecting contest outcomes	d.f.	Estimates	G	<i>p</i>
Intercept		-0.77		
Egg load diff.	1	0.42	8.16	< 0.01
Pre-experience (Pupae)	1	0.79	2.91	0.09
Host quality (Pupa)	1	2.31	0.0001	0.99
Egg load diff. x pre-experience (Pupae)	1	-0.51	1.63	0.20
Egg load diff. x host quality (Pupa)	1	0.6	7.73	< 0.01
Pre-experience (Pupae) x host quality (Pupa)	1	-5.25	10.68	< 0.01
Egg load diff. x pre-experience (Pupae) x host quality (Pupa)	1	0.95	0.9	0.34
Residuals	55			
Total	62			

P values of significant explanatory variables are highlighted in bold font.

Discussion

The purpose of our study was to test the relative effect of both objective and subjective host value on female oviposition decisions and conflict resolution in the solitary ectoparasitoid *E. vuilleti*. By measuring the impact of 2 host types on different offspring life history traits (used as a proxy for mothers' fitness), we first showed that *C. maculatus* 4th instar larvae and pupae represent resources with different resulting fitness benefits for *E. vuilleti* mothers, hence differing in objective RV. Moreover, though different components of objective (host type) and subjective (initial egg load and availability in both host types) RV did not influence female oviposition decisions, they interacted to affect female aggressiveness and contest outcome. Thus, wasps' agonistic behaviors and winning probability were influenced by the habitat quality they previously experienced, their number of ready-to-lay eggs and type of host being contested.

In our first experiment, the body mass of the offspring at emergence varied according to the type of host on which they developed: female offspring were heavier after developing on L4 larvae than on pupae.

In parasitoids, like in many insect species, adult body mass usually correlates positively with fitness because heavier individuals often live longer and are more fecund (Honek, 1993; Visser, 1994; Ueno, 1999; Sokolovska et al., 2000; Rivero & West, 2005; Lacoume et al., 2006). This result therefore suggests that L4 larvae represent higher-fitness hosts for mothers than pupae. However, as *C. maculatus* larvae were also heavier than pupae (Student paired-test: $t = 4.55$, $P < 0.001$), we cannot disentangle whether the benefits derive from the hosts' developmental stage or their mass.

Because of the positive correlation between host quality, individual body mass, and fitness in parasitoid offspring, the primary selection pressure driving the evolution of parasitoids is often seen as the one maximizing the adult size of these offspring, and mother oviposition strategies have been presumed to maximize this trait (Visser, 1994). As such, we expected *E. vuilleti* females to benefit more from ovipositing on higher-quality hosts, mainly when they were deprived of such hosts (i.e. they came from a low-quality habitat). It was therefore surprising to find that neither the objective host value nor the oviposition pre-experience affected oviposition decisions: females laid first on the first host they encountered in their environment. Some may argue that these wasps were not able to assess the developmental stage of the host they parasitize, hence being unable to adjust their behavior accordingly. This seems unlikely because several studies in *E. vuilleti* already have demonstrated that females possess fine-tuned discrimination abilities. As shown in several other parasitoid species (see Visser et al., 1992; Jaloux et al., 2004; Todoroki & Numata, 2017 for examples), *E. vuilleti* females are known to modulate their oviposition according to host condition (i.e. healthy vs. parasitized), as well as after detecting differences in the timing from the last oviposition (Leveque et al., 1993; Jaloux et al., 2004). Secondly, by providing hosts of different developmental stages (i.e. pupae, L4 larvae, or 3rd instar larvae) independently to three *E. vuilleti* females groups, Terrasse and Rojas-Rousse (1986) observed that the number of eggs laid by females increased with the developmental stage of their hosts: wasps in the presence of pupae laid more eggs than those provided with L4 larvae and they laid more eggs in the presence of L4 larvae than those provided with 3rd instar larvae. Finally, in our second experiment, female agonistic behaviors depended on the host type, demonstrating that they can discriminate between them. The lack of variation in female oviposition behavior in our first experiment may come from the fact that we minimized their threshold in host selectiveness. In a wide range of animal species, individuals from habitats where high-quality resources are scarce benefit more from choosing lower quality resources than from nothing, and thus tend to be less selective (Werner & Hall, 1974; Stamps et al., 1981; Shelly & Bailey, 1992; Gallant et al., 2004; Goubault et al., 2007a). We exposed wasps to only 1 host daily before starting behavioral observations. Mohamad et al. (2010) have previously noticed that females with many ready-to-lay eggs perceived such condition as a poor habitat in terms of host availability. In this context, laying eggs on 2 hosts of both types rather than on only 1 host of 1 type may be more advantageous for mothers.

In our second experiment investigating the role of both objective and subjective host value on female aggressiveness and contest outcome, our findings support studies showing that reproductive state asymmetry (i.e. subjective RV) greatly influence behavioural decisions during fights (Neat et al., 1998; Stokkebo & Hardy, 2000; Arnott & Elwood, 2008). Like Mohamad et al. (2010, 2012), we found that gravid females (i.e. with more mature eggs) have a higher probability of winning contests, hence confirming that asymmetry in initial egg load (a component of subjective RV) between contestants plays a main role in conflict resolution in *E. vuilleti*. We can explain this result by the fact that females with more developed reproductive tissue should place a greater value on host: they are more prepared to oviposit and should therefore be more likely to win access to the resource (Stokkebo & Hardy, 2000).

However, we also observed that the effect of initial egg load asymmetry between winner and loser females was less pronounced when the challenged host was a L4 larva (i.e. a high-quality host) than a pupa. We assume that benefits to oviposit increased with the host quality (i.e. the objective RV) so that wasps with lower initial egg load (i.e. females placing a low subjective RV in hosts) would be more favored during contests for a L4 larva than for a pupa. Furthermore, we showed that oviposition pre-experience (another component of the subjective RV) affected female aggressiveness and conflict resolution. Low-quality habitat females, which were deprived from high-quality hosts (i.e. females placing a high subjective value on hosts), were more aggressive when fighting for a high-quality host than those that previously experienced oviposition on such hosts and were more likely to win. This result is in accordance with both our expectations and theoretical predictions because the effect of subjective RV asymmetry is known to influence individual aggressiveness and conflict resolution in various contexts (Maynard Smith & Parker, 1976; Hammerstein, 1981; Enquist & Leimar, 1987; Arnott & Elwood, 2008). For example, males of the house cricket that were deprived of access to females were more aggressive and mated more often when competing for a female (Brown et al., 2006, 2007), whereas Dissanayake et al. (2009) showed that starved male shore crabs *Carcinus maenas* fought more and were more likely to win access to a cockle on which they feed. In the gregarious parasitoid wasp *Goniozus legneri*, both objective (host size) and subjective (contestant age) components of RV additively affected contest intensity (aggressiveness) for hosts: females competing for larger hosts and older contestants behaved more aggressively (Stockermans & Hardy, 2013). However, to our knowledge, the present study is the first one to describe an interactive effect of both objective and subjective components of RV in a situation of intraspecific competition.

Surprisingly, we found females with oviposition pre-experience on L4 larvae to be more aggressive and to win fights more frequently to access a pupa (i.e. a low-quality host). On one hand, female host-feeding capacity may explain their greater host-acquisition abilities. In parasitoid species, host haemolymph is an available resource for both reproductive and metabolic needs (Jervis & Kidd, 1986; Giron et al., 2002). Here, to feed on L4 larvae (i.e. heavier hosts) may imply higher energy intake for high-quality habitat females compared with low-quality habitat females that only host-fed on pupae (Lawrence, 1990; Godfray, 1994). Because their egg maturation did not increase, wasps may have converted this energy into host searching/exploitation ability. Moreover, mothers from low-quality habitat may have not fed on hosts of reduced size such as small pupae because hosts also serve for the development of their offspring. Concurrent host-feeding and oviposition behaviors on the same host has been observed to render hosts less suitable for offspring development (Heimpel & Rosenheim, 1995; Ferracini et al., 2006); it may have been more advantageous for mothers to only lay in this situation. As a result, females that experienced a habitat with high-quality hosts would therefore have had a higher energy level (i.e. a higher RHP) at the beginning of the contest than those that experienced a low-quality habitat. RHP asymmetry may have overcome subjective RV asymmetry in this case. This agrees with Goubault et al. (2007a) who found in *P. vindemmiae*, another parasitoid species that host feeds, that females from rich habitats (high host availability) were advantaged during contests. Although L4 larvae allowed the development of heavier daughters, pupae may allow the development of offspring with advantageous fitness traits we did not measure in our study, so that mothers would benefit from ovipositing on both host types. For example, larval and pupal stage of many holometabolous insect hosts such as *C. maculatus* have different endocrine and metabolic profile that greatly affect parasitoid fitness (see Lawrence, 1990 for a review). Mondy et al. (2006) showed that variation in cholesterol level, acquired via host feeding during development, played a crucial role for egg viability in newly emerged *E. vuilleti*. If both types indeed represent resources with

different benefits for offspring (i.e. both host types have high objective RV), this would explain why, in the first experiment, mothers laid their eggs on the first encountered host. Moreover, deprivation of one host type may have increased the value that females place on it (i.e. higher subjective RV), which, in this case, could have led females to be more aggressive and more likely to win. We need further investigations to identify any benefits newly emerged wasps may have acquired through developing on a pupal host.

Conclusion

By testing the role of initial egg load, previous habitat quality, and host quality on female agonistic behaviors and probabilities of winning contests over host, we have shown for the first time that both objective and subjective RV interact to influence the intensity (aggressiveness) and the resolution of conflicts for indivisible resources. Our study highlights that the relationship between key factors affecting intraspecific competition may be more complex than expected. We thus call for further investigations of the interactive effects of the different components of RV on animal contests and their resolution.

Acknowledgements

We are grateful to Lou Brossette for her advice on survival analysis and Fabrice Vannier for his technical assistance. We thank Dr. Ryan L. Earley, Dr. Dan Papaj, and 2 anonymous reviewers for helpful comments on the manuscript.

Partie II

Les facteurs influençant les comportements au cours des conflits

Chapitre 4 : Effet de l'apparentement génétique et de la familiarité

En plus de l'asymétrie dans la RV, le degré d'apparentement génétique entre les compétiteurs peut également influencer l'agressivité et l'issue des combats. Eviter les conflits avec un apparenté implique cependant une reconnaissance de parentèle, qui peut se baser la perception d'indices génétiques (phenotypic matching) et/ou environnementaux (familiarité) chez les congénères. Parmi les insectes, la reconnaissance de parentèle a été observé chez différentes espèces eusociales, mais elle semble au contraire plutôt rare chez les espèces non-sociales.

Ce chapitre fait donc l'objet d'une expérience visant à tester l'effet de l'apparentement génétique entre femelles *E. vuilleti* (génotype) et de la familiarité (graine contenant l'hôte exploité durant le développement du parasitoïde) sur l'agressivité et la résolution des conflits pour l'accès à un hôte. En effet, les graines de Niébé stockées dans les greniers traditionnels contenant souvent plusieurs hôtes, plusieurs individus d'*E. vuilleti* peuvent émerger de la même graine à l'âge adulte, ce qui conduit les femelles à faire face à une compétition intraspécifique intense avec leurs congénères apparentés et non apparentés.

Nous avons observé que l'interaction entre l'apparentement génétique et la familiarité influencent la probabilité que les conflits soient agressifs : l'escalade vers un conflit agressif moins probable entre guêpes génétiquement apparentées (même génotype) et familières (issues d'hôtes contenus dans la même graine de niébé). Par ailleurs, la probabilité de résolution d'un conflit était plus élevée lorsque les femelles étaient familières.

Notre étude montre ainsi que la reconnaissance de parentèle peut influencer les conflits chez un insecte non-social, et révèle pour la première fois que deux composantes de cette reconnaissance (phenotypic matching et familiarité) peuvent interagir et affecter la compétition intraspécifique pour l'accès à une ressource.

“Would I lay down my life to save my brother? No, but I would to save two brothers or eight cousins.”

J.B.S Haldane, généticien, biologiste mathématicien

Chapitre 4

Effet de l'apparentement génétique et de la familiarité

Keep calm, we know each other:

Kin recognition affects aggressiveness and conflict resolution in a solitary parasitoid

Mathiron Anthony G.E., Pottier Patrice & Goubault Marlène. *Animal Behaviour* (2019), 29(5), 1088–1095

Summary

Intraspecific competition for indivisible resources can trigger the expression of agonistic behaviour in individuals of many animal species. Aggressiveness and conflict resolution may be influenced by the value individuals place on the resource (subjective resource value) but also by genetic relatedness between competitors. The ability to differentiate genetically related from unrelated individuals (i.e. kin recognition) can play a key role in the dynamics of agonistic interactions between individuals. In this context, the theory of kin selection predicts that competitors should display fewer aggressive behaviours towards closely related individuals. Recognition of kin can be driven by the perception of (1) genetically linked phenotypic cues (phenotypic matching) and/or (2) environmental cues (familiarity). In the hymenopteran solitary parasitoid *Eupelmus vuilleti*, individuals develop on larvae and pupae of their host, *Callosobruchus maculatus*, which infest cowpea seeds, *Vigna unguiculata*. *Eupelmus vuilleti* females can fight for the host on which they lay their eggs. Here, we investigated the effect of genetic relatedness (genotype) and familiarity (the seed containing the host on which they develop as juveniles) on aggressiveness and contest outcome over hosts in *E. vuilleti* females. We first demonstrated that the probability of a conflict escalating was affected by the interaction between genetic relatedness and familiarity among females. We then found that familiarity alone affected the likelihood of contest resolution. The occurrence of escalated conflicts was reduced between related and familiar females, and contests were more likely to be clearly resolved when occurring between familiar competitors. Our results highlight a parasitoid wasp's abilities to identify and discriminate kin, showing for the first time that two kin recognition components can interact in mediating competition avoidance for resource access in a solitary insect species.

Key words: *Eupelmus vuilleti*, Familiarity, Genetic relatedness, Phenotype matching, Subjective resource value.

Introduction

Intraspecific competition for an indivisible resource can lead to direct interactions between individuals (i.e. conflicts, Hardy & Briffa, 2013). To prevent other individuals from accessing the resource, animals often exhibit agonistic behaviour during contests (Hack, 1997; Riechert, 1998). Winning a conflict can improve access to sexual partners (West-Eberhard, 1979), food resources (Vogel, 2005), territories (Festa-Bianchet, Apollonio, Mari, & Rasola, 1990) or dominance status (Chase, 1974), but being aggressive can potentially be costly in terms of energy expenditure (Maynard Smith, 1974), physical injuries (Innocent et al., 2011; Palombit, 1993) or increased predation risk (Jakobsson et al., 1995). Animals should therefore evaluate the costs and benefits of exhibiting agonistic behaviours and adjust their behaviour accordingly (Maynard Smith & Price, 1973). In the case of dyadic interactions, game theory predicts that contest outcome should be influenced by the asymmetries that exist between contestants in terms of their intrinsic ability to obtain and hold access to a resource ('resource-holding potential', RHP; Maynard Smith, 1974; Parker, 1974), and the value they place on the resource ('subjective resource value', SRV; Enquist & Leimar, 1987; Hammerstein, 1981; Maynard Smith & Parker, 1976). Individuals with higher RHP (e.g. bigger contestants) typically win the resource (Arnott & Elwood, 2009; Elias et al., 2008; Maynard Smith, 1982), and individuals with higher SRV (e.g. with greater egg load or lower food intake) are expected to be more motivated to fight and have a higher probability of winning contests (Dissanayake et al., 2009; Stokkebo & Hardy, 2000). Moreover, these factors have been shown to influence aggressiveness, the most aggressive contestants being generally more likely to win conflicts (Goubault et al., 2007a; Mathiron et al., 2018; Mohamad et al., 2010).

Aggressiveness during conflict can also vary with the degree of genetic relatedness between competitors (West et al., 2002). Kin selection theory postulates that a trait that does not provide a direct fitness benefit (or to some extent, a negative effect) to the individual that expresses it can be selected for if it improves the fitness of the individuals carrying the same genes as the protagonist (i.e. indirect fitness; Hamilton, 1964). In the context of conflicts, it would be advantageous for an individual to be less aggressive towards genetically related conspecifics (Griffin & West, 2002; Hamilton & May, 1977; Lizé et al., 2012) because this would maximize their inclusive fitness (West et al., 2001). However, avoiding conflicts between relatives implies kin recognition, that is, the identification (neurophysiological process) and discrimination (the expression of different behaviours) of genetically related individuals. Two types of recognition exist: (1) recognition based on the perception of genetically encoded phenotypic indices (Gadagkar, 1985) and (2) familiarity, which refers to the recognition of individuals regardless of their genetic relatedness (Lizé et al., 2012). For instance, two individuals can be considered familiar if they meet often, or if they come from the same environment. The ability to recognize and discriminate genetically related individuals has been observed in various animal taxa, such as nematodes (Kapranas et al., 2016), anuran amphibians (Blaustein & Waldman, 1992) and mammals (Heth et al., 1998). In social insects, for example, kin recognition and avoidance of competition between relatives have been demonstrated in many species, such as sweat bees, *Lasioglossum zephyrum*, honey bees, *Apis mellifera* (West-Eberhard, 1989), and the socially polymorphic ant *Pheidole pallidula* (Fournier et al., 2016). In nonsocial insects, on the other hand, this phenomenon seems rarer (for reviews, see Fellowes, 1998 and Griffin & West, 2002) or even absent, as in the parasitoid wasps *Aphidius matricariae* (Bourdais & Hance, 2009) and *Cotesia glomerata* (Ruf et al., 2010). Theoretical models also predict that kin discrimination may not evolve in populations with a low dispersion of individuals due to the high risk of competition for resources between relatives (West et al., 2002).

In hymenopteran parasitoids (i.e. organisms that feed and develop at the expense of a host, resulting in its death), females may compete to feed and lay their eggs on (i.e. ectoparasitoid) or in (i.e.

endoparasitoid) a host. Because offspring survival directly depends on the mother's ability to acquire and defend the host (Petersen & Hardy, 1996), agonistic interactions may occur between females that may, in some cases, be fatal, as described in some *Melittobia* species (Godfray, 1994; Hartley & Matthews, 2003; Innocent et al., 2011). In this context, four main factors acting on RHP and/or SRV appear to influence conflict resolution: (1) relative size and age of the opponents, (2) order of arrival on the resource (resident or intruder), (3) egg load and (4) previous experience. Bigger and older females usually win contests (Humphries et al., 2006; Petersen & Hardy, 1996; Tsai et al., 2014), as do residents (Enquist & Leimar, 1987; Maynard Smith & Parker, 1976), even if they are smaller than intruders (Bentley et al., 2009). In addition, individuals with a larger egg load are generally advantaged during combat; these females value the resource more because a larger egg load would allow them to oviposit on the host sooner (Mohamad et al., 2010; Stokkebo & Hardy, 2000; but see Goubault et al., 2007a). Finally, females that have experienced low-quality hosts or low host densities are usually more aggressive and win more often in the presence of high-quality hosts (Mathiron et al., 2018; Mohamad et al., 2010). Although the ability to treat kin differentially may influence the dynamics of contests between parasitoids competing for hosts, this has rarely been tested empirically. To our knowledge, only two studies measured the effect of kin recognition on competition avoidance and aggression in hymenopteran parasitoids (1) in the polyembryonic wasp (i.e. clonal multiplication of eggs within the host): *Copidosoma floridanum* (Giron et al., 2004) and (2) in the gregarious (i.e. several larvae develop on the same host) parasitoid *Goniozus legneri* (Lize et al., 2012). In the latter study, Lize et al. (2012) showed that adult females recognized their relatives through phenotypic cues and familiarity (development on the same host), adjusting their aggressiveness accordingly. Familiarity would thus act as a proxy for kinship. However, no study has measured the effect of genetic relatedness on aggression and conflict resolution in a solitary parasitoid species.

Here, we explored the effect of kin recognition on aggressiveness and resolution of conflict in females of the solitary ectoparasitoid wasp *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera: Eupelmidae). Females parasitize and feed upon larvae and pupae of the cowpea seed beetle, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), which infests seeds of *Vigna unguiculata* (Fabaceae). *Eupelmus vuilleti* is a solitary parasitoid, which implies that only one individual develops per host (supernumerary larvae are eliminated by larval competition; Fisher, 1961). When several females are simultaneously present on a patch, they tend to protect the host by directing agonistic behaviours towards conspecific competitors (Mathiron et al., 2018; Mohamad et al., 2010). In sub-Saharan Africa, farmers traditionally stored cowpea seeds in granaries, sometimes resulting in populations of both hosts and parasitoids reaching high densities. Since seeds often contain several hosts, several individuals of *E. vuilleti* can emerge from the same seed, leading females to experience intense intraspecific competition with both kin and nonkin conspecifics.

We therefore tested whether wasps are able to adjust their aggressiveness during contests for host access depending on their level of genetic relatedness with their competitor. Because reducing the costs associated with conflicts between kin may be beneficial in terms of inclusive fitness, we expected a decrease in aggressiveness and conflict escalation between related females. Moreover, if kin recognition is effective in *E. vuilleti* females, this recognition might be based on phenotypic matching, familiarity or both. Females may use cues from genetically encoded phenotypic traits and/or from a common environment. For example, the seed containing hosts on which wasps developed may itself act as a way to identify kin. Using a full factorial design, we made genetically related or unrelated juveniles develop on hosts within the same seed (familiar) or different seeds (unfamiliar). We then investigated the effects of (1) genetic relatedness among adult females (genetically related versus unrelated), (2) the seed containing the hosts on which females developed (same versus different seeds, i.e. familiar versus unfamiliar), (3) the absolute difference in SRV (number of ready-to-lay eggs) of individuals, and (4) the interaction between these variables on aggressiveness, contest escalation and resolution. As contests are predicted to be clearly settled

and less aggressive when contestants show a large difference in SRV (Maynard Smith & Parker, 1976), we expected contests in which the absolute difference in egg load between contestants was large to be less aggressive and often won by the most gravid female. If females recognize kin and avoid fighting them, this effect of SRV asymmetry should be stronger between unrelated/unfamiliar females.

Material and Methods

Laboratory breeding

We tested individuals of *E. vuilleti* that were collected on cowpea seeds from crops cultivated in Togo in 2007. Wasps were brought to the laboratory (Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, Université de Tours, France) and reared on juvenile stages of *C. maculatus*, as described by Jaloux et al. (2004). We performed all experimental procedures in a climate room (temperature = 30°C and photoperiod = 12:12 h light:dark).

Genotypes

To study the influence of genetic relatedness between females on competition for host access, we bred four genetically inbred strains. Working on individuals from more than two genotypes minimized the risk of bias from contest behaviours that were specific to these genotypes. To do so, we separately introduced four mating pairs from the same breeding stock into petri dishes (diameter: 8.5 cm; height: 2.7 cm) with cowpea seeds infested by *C. maculatus* and a piece of cotton soaked in water. We isolated females at emergence so that they were virgin and we placed them in the dish in the presence of a male. We left pairs in contact for 1e2 days so that females could mate and parasitize hosts. We then removed the wasps to allow offspring development (generation I, G1). At the emergence of G1 offspring (about 15 days after hatching; Jaloux et al., 2004), we mated one son and one daughter from each original mating pair to produce the second generation (G2). We repeated this procedure until the 17th generation (G17). Theoretical models estimate that inbred lineages become fixed from G20 in diploid species (Hamilton, 2009). As *E. vuilleti* is a haplodiploid species, fixation is likely to be more rapid; we therefore assumed that we had generated four different, highly inbred genotypes (referred to as genotypes 'A', 'B', 'C' and 'D'). We then individually placed G17 females into petri dishes with a brother and supplied them with infested cowpea seeds for 7 days, to obtain G18 daughters that were (1) familiar (same seed) and related (same genotype), (2) familiar (same seed) and unrelated (different genotypes), (3) unfamiliar (different seeds) and related (same genotype) and (4) unfamiliar (different seeds) and unrelated (different genotypes). To obtain familiar-unrelated females (i.e. from the same seed but genetically different), we cut seeds in half, placed each half into a different petri dish and allowed G17 mothers from different genotypes to separately parasitize hosts contained in each half of the seeds (Fig. 4.I). The difficulty in obtaining wasps that emerged synchronously from each half seed explains the relatively small sample size of contests performed between these unrelated familiar females (see 'Experimental procedure').

Preparation of females for contests

At the emergence of G18 individuals, we isolated wasps to prevent them from having any competition experience and introduced them separately into petri dishes supplied with a piece of cotton soaked in water (Fig. 4.I). During the 3 days preceding behavioural observations, we provided females

with one *C. maculatus* pupa, which was replaced daily. To do so, we dissected cowpea seeds to collect pupae. We then individually placed them in standard transparent gelatine capsules (length: 2 cm; diameter: 0.6 cm). These artificial seeds allow for better observation of laid eggs, without altering females' oviposition behaviour (Gauthier & Monge, 1999; Jaloux et al., 2004). Moreover, as *E. vuilleti* is a synovigenic species (i.e. they possess a few mature eggs at emergence and egg maturation continues throughout adult life), we added a male to each female's petri dish for 24 h to stimulate oogenesis (Terrasse & Rojas-Rousse, 1986). In addition, to facilitate individual identification during contests, we marked them on the dorsal part of their thorax with a dot of bright yellow or bright red acrylic paint. On the day of behavioural observations, we removed the hosts for at least 2 h before the start of the contest so that females were more motivated to oviposit. We then observed contests between females fighting for a fourth-instar larva of *C. maculatus*.

Experimental Procedure

At the start of the observation, we simultaneously introduced two parasitoid females into an arena consisting of a plastic block made of three chambers linked by a narrow channel (adapted from Petersen & Hardy, 1996). We placed females in the central chamber which contained a fourth-instar larva of *C. maculatus* previously placed in a capsule. Mathiron et al. (2018) showed that females with oviposition experience on pupae were more motivated to gain access to a fourth-instar larva. Contestants were of the same age (3 days old), marked with different colours and visually matched for size (a posteriori analysis confirmed that contestants did not differ significantly in body mass; Wilcoxon signed-ranks test: $T = 2463$, $N = 92$, $P = 0.14$). We set up four different types of contest (Fig. 1), with different combinations of genotypes: (1) females from the same seed and with the same genotype (i.e. familiar-related, $N = 19$; genotype combinations: 'AA', $N = 7$; 'BB', $N = 5$; 'CC', $N = 2$; 'DD', $N = 5$), (2) females from the same seed that were from different genotypes (i.e. familiar unrelated, $N = 9$; genotype combinations: 'AD', $N = 1$; 'BC', $N = 2$; 'BD', $N = 1$; 'CD', $N = 5$), (3) females from different seeds and with the same genotype (i.e. unfamiliar-related, $N = 25$; genotype combinations: 'AA', $N = 9$; 'BB', $N = 5$; 'CC', $N = 7$; 'DD', $N = 4$) and (4) females from different seeds that were from different genotypes (i.e. unrelated-unfamiliar, $N = 39$; genotype combinations: 'AB', $N = 6$; 'AC', $N = 5$; 'AD', $N = 8$; 'BC', $N = 6$; 'BD', $N = 7$; 'CD', $N = 7$). Wasps from the same genotype were full sisters.

During all tests, we recorded oviposition and aggressive behaviours displayed by each female. When wasps detect a conspecific (identified by females raising their antennae in the direction of their opponent), they frequently stop their behavioural oviposition sequence (Mohamad et al., 2010). Females can either display defensive behaviour, kicking the opponent with their legs without taking their ovipositor out of the capsule, or they can attack, in which case one parasitoid usually hits her opponent with her head, chases her away from the capsule or even mounts her. This hitting, chasing or mounting can make the loser leave the central chamber of the arena. We therefore considered only these behaviours, collectively termed as 'attack', in the rest of the study. We conducted behavioural observations during 1 h or stopped the contests when one female left the central chamber for at least 2 min. We also stopped contests when neither of the females touched the host nor displayed any aggressive interactions for at least 2 min. We considered a contest as resolved when a female chased her opponent out of the central chamber, or when only one female displayed oviposition behaviour (i.e. the winning female) during the experiment.

At the end of the experiments, we immediately froze the wasps at 20 °C. We then weighed them using an electronic balance (Ohaus Discovery model, accuracy: 0.01 mg) and we counted the mature eggs in their abdomen (i.e. egg load) by dissecting them. Finally, we noted for each contest the number of eggs laid on the host by the winning females to determine their initial egg load (i.e. at the start of the contest).

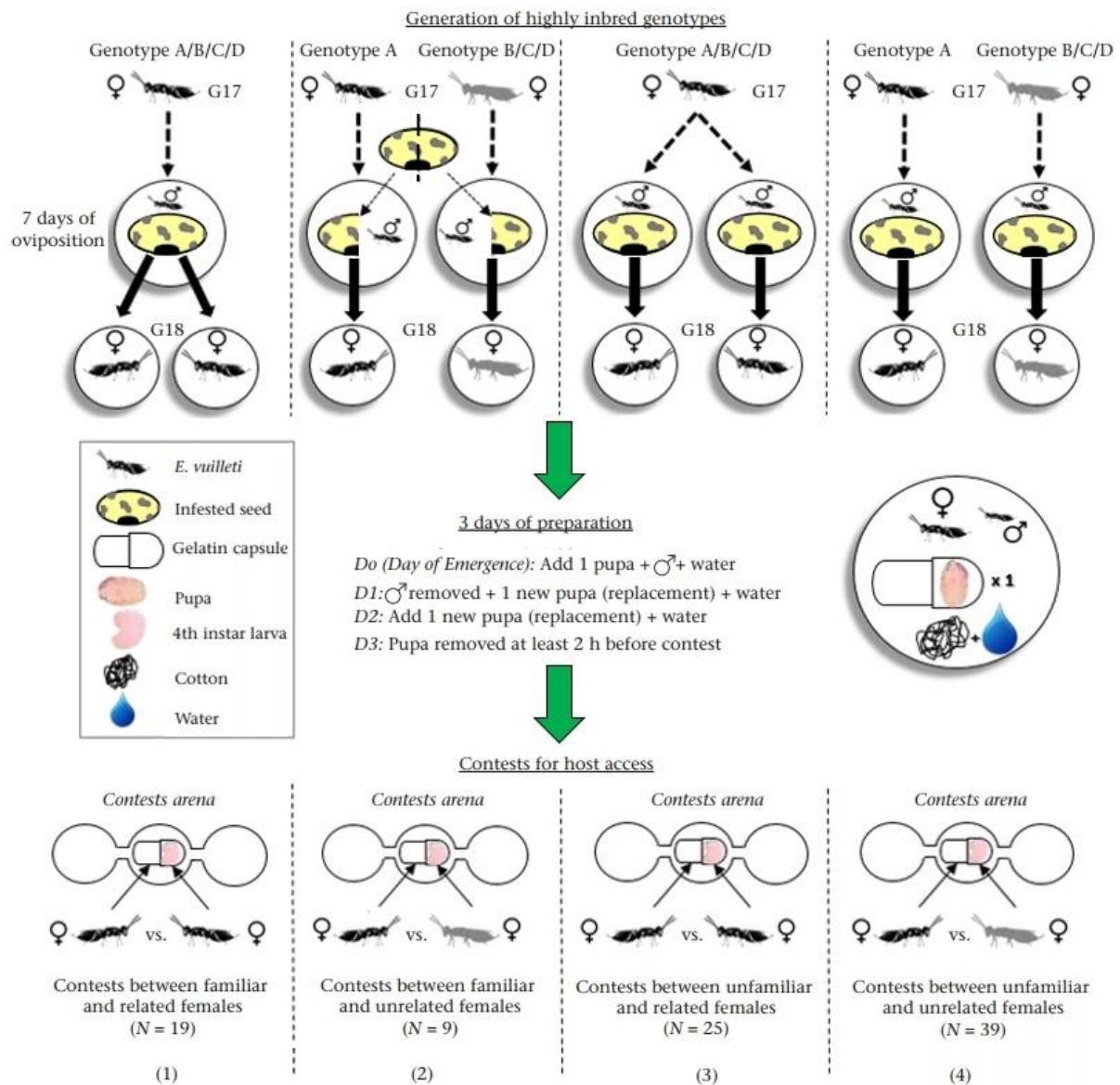


Figure 4.I. Experimental design that allowed us to investigate the role of genetic relatedness and familiarity on female aggressiveness and conflict resolution over host access. Parasitoid females from different genotypes ('A', 'B', 'C', 'D') mated and then parasitized infested cowpea seeds for 7 days, to obtain adult wasps that had emerged from the same seed or not, and that were genetically related or not. After 3 days of preparation, we observed contests between females that were (1) familiar-related, (2) familiar-unrelated, (3) unfamiliar-related and (4) unfamiliar-unrelated, fighting for access to a host.

Statistical Analysis

We analysed our data with the software R (R Development Core Team, 2016; version 3.5.0), using $\alpha = 0.05$. Instead of transforming data to fit standard assumptions, we chose to perform parametric analyses in which the assumed distribution of residuals was matched to the data (Briffa et al., 2013; Wilson & Hardy, 2002).

We first defined contest aggressiveness as a binary response: 0 = no aggressive behaviour occurred during a replicate and 1 = aggressive behaviours occurred ($N = 92$ contests). We then performed a generalized linear model (GLM) with a binomial error distribution (link function = 'logit') to investigate the influence of absolute difference in initial egg load between contestants, genetic relatedness and familiarity among females on the probability that aggressive behaviours would be exhibited during a contest. The model included the three main effects and two-way interactions between variables. We used the same procedure to explore the influence of absolute difference in initial egg load between contestants, genetic relatedness and familiarity among females on the probability of contest resolution. We thus defined contest resolution as a binary response: 0 = the contest was unresolved and 1 = there was a clear winner ($N = 92$ contests). We finally examined the influence of absolute difference in initial egg load between contestants, genetic relatedness and familiarity among females on the total number of attacks by both females during a contest. To account for overdispersion, we ran a GLM assuming a quasi-Poisson distribution of residuals (link function = 'log'), considering only aggressive contests (i.e. contests where at least one attack was observed; $N = 76$). The model included main effects and two-way interactions between variables. We also included in the model the logarithm of contest duration as an offset term to account for differences in contest duration. For all analyses, we started with the maximal model and removed nonsignificant interactions to test the significance of main effects. Likelihood ratio, chi-square and F statistics were calculated using the 'Anova' function (package car), which performs type 2 analysis of variance for GLM models, that is, invariant to the order in which effects are entered into the model (Fox & Weisberg, 2019). Where we found significant interactions between factors, we ran Dunn's post hoc multiple comparison tests to establish which modalities significantly differed from each other (Dunn, 1961).

Ethical Note

We used 372 individuals in this study: 186 females for contests and 186 males for female insemination. No animal ethics approval was required. Nevertheless, we handled all individuals with care, and we kept handling time to an absolute minimum. Acrylic paint used for marking does not cause injury to wasps. Dissected wasps were chilled in a freezer prior to decapitation.

Results

Effect of genotype combination

We first verified that the genotype combination of the contestants did not affect the probability of contests being aggressive (GLM with binomial distribution of residuals: $G_9 = 12.72$, $P = 0.18$), the probability of a contest being resolved (GLM with binomial distribution of residuals: $G_9 = 9.91$, $P = 0.36$) or the number of attacks during a contest (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: $F_{9,66} = 1.90$, $P = 0.07$). However, this could reflect a lack of statistical power due to small sample sizes.

Escalation and resolution of conflicts

The probability of contests being aggressive was significantly influenced by the interaction between genetic relatedness and familiarity of females (GLM with binomial distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = -17.29 ± 1312.5 , $GI = 5.54$, $P = 0.02$; **Fig. 4.2a**). Contest escalation was indeed less likely when

contestants were familiar and related than when they were familiar and unrelated (post hoc Dunn's multiple comparison test: $P = 0.02$; **Fig. 4.2a**), but no difference was observed between unfamiliar-related and unfamiliar-unrelated females (post hoc Dunn's multiple comparison test: $P = 0.27$; **Fig. 4.2a**). Moreover, no difference was observed between familiar-related and unfamiliar-related females (post hoc Dunn's multiple comparison test: $P = 0.05$; **Fig. 4.2a**), and between unfamiliar-related and unfamiliar-unrelated females (post hoc Dunn's multiple comparison test: $P = 0.10$; **Fig. 4.2a**). The probability of a contest being aggressive did not vary significantly with the absolute difference in female egg load (GLM with binomial distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = -0.115 ± 0.184 , $GI = 0.38$, $P = 0.54$). All other interactions were also nonsignificant. The probability of a contest being clearly resolved varied significantly with familiarity (GLM with binomial distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = 2.216 ± 0.802 , $GI = 11.32$, $P < 0.001$). Contests between familiar females had a greater chance of showing a clear winner than contests between unfamiliar females (**Fig. 4.2b**). However, we found no effect of genetic relatedness (GLM with binomial distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = -0.332 ± 0.507 , $GI = 0.430$, $P = 0.51$), the absolute difference in female egg load (GLM with binomial distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = -0.201 ± 0.158 , $GI = 1.634$, $P = 0.2$) or any two-way interactions between variables.

Number of Attacks during Conflicts

The combined total number of attacks displayed by the two wasps during a contest was influenced by the absolute difference in female egg load, with contests being more aggressive when this difference was larger (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = 0.229 ± 0.041 , $F_{1,72} = 28.01$, $P < 0.001$; **Fig. 4.3**). This total number of attacks did not vary with female genetic relatedness (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = -0.059 ± 0.148 , $F_{1,72} = 0.1593$, $P = 0.69$), familiarity (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = -0.32 ± 0.170 , $F_{1,72} = 3.795$, $P = 0.06$) or any two-way interactions between these variables.

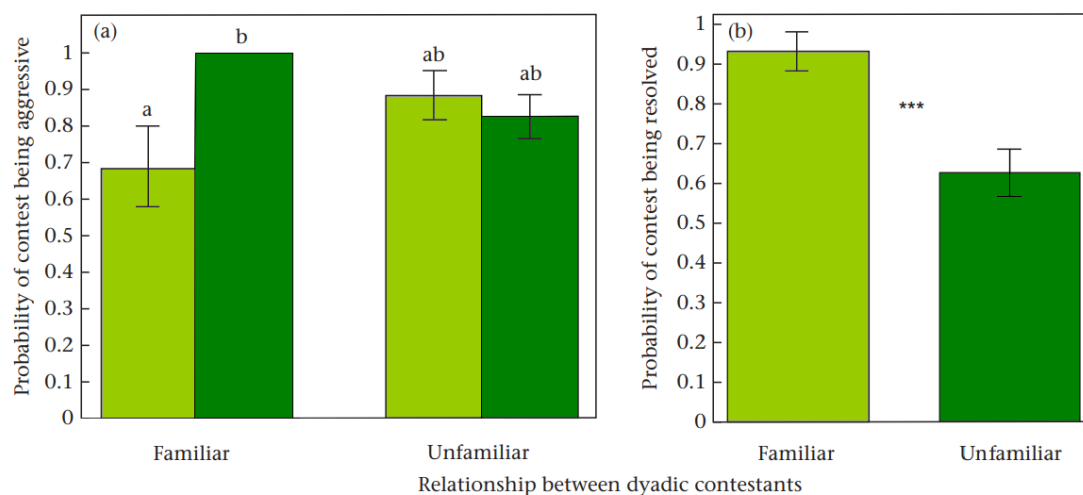


Figure 4.2. (a) Probability ($\pm$ SEM) of a contest being aggressive when familiar contestants were genetically related (light bars, $N = 19$) or unrelated (dark bars, $N = 9$), or when unfamiliar contestants were genetically related (light bars, $N = 25$) or unrelated (dark bars, $N = 39$). Different letters indicate significant differences based on post hoc Dunn's multiple comparison test. (b) Probability ($\pm$ SEM) of a contest being resolved when contestants were familiar (light bars, $N = 28$) or unfamiliar (dark bars, $N = 64$). ***: $P < 0.001$.

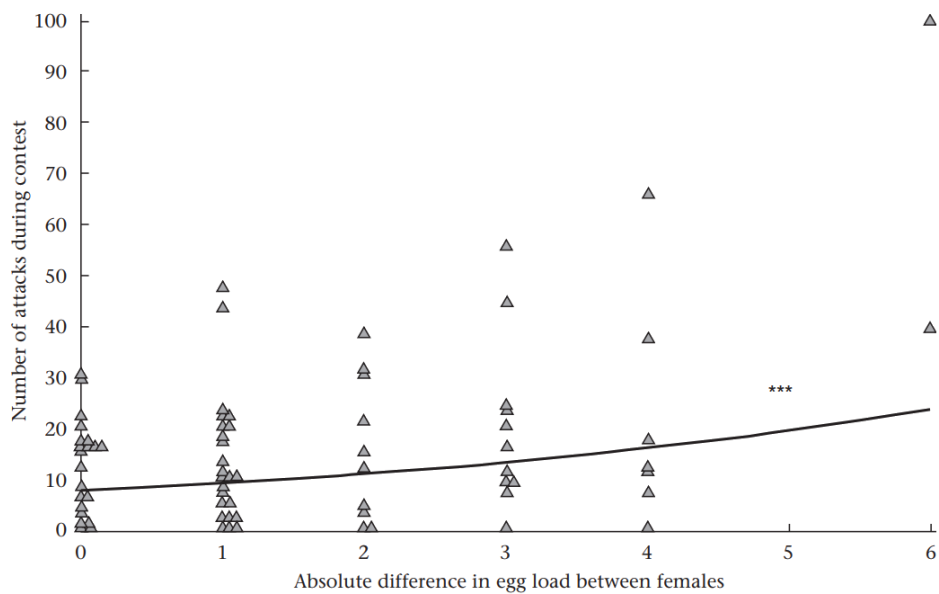


Figure 4.3. Combined total of number of aggressive behaviours observed during a contest according to the absolute difference in initial egg load between females of the same dyad. ***: $P < 0.001$. Statistical analyses accounted for differences in contest duration and showed that the effect of the absolute difference in female egg load was still significant when we removed the contest during which we observed 100 attacks (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = 0.175 ± 0.049 , $F_{1,71} = 4.87$, $P < 0.01$).

Discussion

The main goals of our study were (1) to investigate whether *E. vuilleti* females adjust their aggressive behaviour during contests for host access according to the genetic relatedness with their competitor and, if so, (2) to explore on which components (phenotypic matching and/or familiarity) kin recognition is based. We observed that both genetic relatedness and familiarity influence the probability of conflict being aggressive: contest escalation was the least likely when contestants were both familiar and related. Moreover, familiarity affected conflict resolution, contests being more likely to be resolved when females were familiar. We thus highlighted kin discrimination in *E. vuilleti*, a solitary parasitoid with low dispersion ability (Cortesero et al., 1997). This evidence is important because, in species with limited dispersion, the high risk of competition between kin may weaken the evolution of kin discrimination (West et al., 2001, 2002) and behaviours favouring relatives may not be selected for, as observed in fig wasps (West et al., 2001).

Our results first indicate that *E. vuilleti* individuals were able to recognize both genetically related females and familiar females, and then decide whether to engage in an aggressive contest or not. Recognition of relatives in *E. vuilleti* agrees with what was found in the polyembryonic wasp genus *Copidosoma*, in which attack rates by the larval soldier caste was inversely correlated with competitor relatedness (Giron et al., 2004). Moreover, in the gregarious parasitoid wasp, *G. legneri*, contests between adult females over hosts were less aggressive when competitors were more closely related and when females had developed on the same host (i.e. were familiar, Lizé et al., 2012). However, several other studies of parasitoid hymenopterans have reported that kin recognition did not affect fights between males (Innocent et al., 2011; West et al., 2001), mate choice (Bourdais & Hance, 2009; Ruf et al., 2010) or sex allocation behaviour (Reece et al., 2004). Recognition of genetically encoded phenotypic cues can

operate through two mechanisms: (1) allelic recognition (greenbeard effect), that is, recognition of an allele that underlies the expression of a phenotypic trait (Gardner & West, 2010) and (2) phenotypic matching, which is based on overall phenotypic similarity between related individuals (Gadagkar, 1985; Mateo, 2004). The first mechanism leads to the recognition of similarity at the locus responsible for expression of the phenotypic trait (Gardner & West, 2010), while the second mechanism leads to relatedness recognition at the genome scale if there is a strong correlation between both genetic and phenotypic similarity (Gardner & West, 2010; Mateo, 2004). Because allelic recognition may involve cooperation between unrelated individuals expressing the trait encoded by a given allele, fixation in a population is expected to be rare owing to invasion by cheaters (Gardner & West, 2010). As such, phenotypic matching is more plausible in the current case. Phenotype matching, in which the genotype of individuals is expressed through their phenotype, contrasts to familiarity in which phenotypic cues may derive from genotypes and/or environment (Lizé et al., 2012). Even if phenotypic matching is generally referred to as a different mechanism from familiarity, phenotypic matching may thus be an extension of familiarity (Mateo, 2004). Here, because the probability of a conflict being aggressive was influenced by the interaction between genetic relatedness and familiarity among females, this suggests that a phenotypic matching mechanism may be an extension of familiarity in *E. vuilleti* females. In accordance with the study of Lizé et al. (2012) in *G. legneri*, our experiments highlighted that these two components of kin recognition affect contests for hosts in a parasitoid wasp. More strikingly, we showed for the first time that both components can interact to affect intraspecific competition for resources in a solitary insect species.

While we also expected the total number of aggressive behaviours displayed during contests to be influenced by both kin recognition components, only the difference in competitors' egg load had a significant effect: fights were less aggressive when the opponents had a similar number of mature eggs. This unexpected result seems to contradict theoretical models predicting that symmetry between individuals leads to more escalated and longer contests (Maynard Smith & Parker, 1976; Parker, 1974). Here, one explanation is that the total number of attacks during a contest may have been driven by the behaviour of the contestant with the highest egg load. As egg load is known to influence competitors' subjective value of the resource (Enquist & Leimar, 1987; Stokkebo & Hardy, 2000), the more gravid females (i.e. with more mature eggs in their ovaries) are expected to be more motivated to fight for winning access to the host. Opponent females can match their aggressiveness, resulting in an increase in the total number of aggressive behaviours during conflicts. Additional analyses seem to support this hypothesis: the total number of attacks displayed by the two wasps during contests increased significantly with the egg load of the most gravid contestant (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = 0.11 ± 0.04 , $F_{1,74} = 6.20$, $P = 0.02$) and the number of attacks displayed by both females were positively correlated (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: estimates $\pm$ SE = 0.04 ± 0.01 , $F_{1,74} = 36.27$, $P < 0.001$). Furthermore, our results add to the evidence that egg load is the major factor driving variation in aggressive behaviours during contests for hosts in *E. vuilleti* (Mohamad et al., 2010, 2012). The underlying mechanism is still unknown, but the involvement of hormones has been suggested (Goubault & Decuignière, 2012; Stokkebo & Hardy, 2000). In particular, juvenile hormone is known to be involved in egg maturation in many insect species (reviewed by Nijhout, 1994) and associated with aggressiveness in various hymenopteran species such as paper wasps (Tibbetts & Huang, 2010) and honey bees (Pearce et al., 2001). Ecdysteroids also play a major role in the regulation of oogenesis in *E. vuilleti* females (Bodin et al., 2009), and may affect female aggressive behaviours. Nevertheless, additional work is required to investigate to what extent hormones may affect female aggressiveness during contests over hosts.

In contrast with Lizé et al. (2012) who found no effect of familiarity or genetic relatedness on the probability of contests being resolved in *G. legneri*, we showed that conflicts between familiar females

were more likely to result in a clear winner and loser. In parasitoid hymenopterans, offspring survival, hence females' direct fitness, depends directly on their ability to acquire, parasitize and defend hosts (Petersen & Hardy, 1996). However, exploiting a host, and especially drilling through the seed to access it, has been shown to be highly energetically costly in this species (Boisseau et al., 2017). Leaving a host, to the benefit of another female, is thus a waste of potential fitness return, but may save energy. Nevertheless, if both contestants are relatives, the increase in inclusive fitness may counterbalance the cost of surrendering the host to a conspecific female, as predicted by kin selection theory (Hamilton, 1964). Behavioural mechanisms that allow higher probabilities of contest resolution between familiar females in *E. vuilleti* would therefore be adaptive, if emerging from hosts that developed in the same seed is a good predictor of genetic relatedness in this species. In *E. vuilleti*, mothers often monopolize a cowpea seed infested by several juvenile *C. maculatus* (Mohamad et al., 2012), and wasps that emerge from the same seed are therefore highly likely to be sisters.

We found that whether *E. vuilleti* females relied on genetic relatedness or familiarity cues depended on the contest stage. They first relied on both types of cue when deciding whether to escalate the conflict or not. Then, during escalated contests, aggressiveness varied only with SRV asymmetry between contestants. Finally, contest resolution was based on familiarity cues only. Although this may be surprising at first glance, the type of information used by animals for decision making is known to change during contests (see Arnott & Elwood, 2009 for a review of 'assessment' models). For example, Elias et al. (2008) showed that males of the jumping spider *Phidippus clarus* used multimodal signals during aggressive interactions: the duration of the precontact phases was based on differences in vibration behaviour between males, while motivation to escalate towards contact phases was mainly based on body size. Moreover, in the mangrove rivulus fish, *Kryptolebias marmoratus*, males use different assessment strategies during conflicts: usually adopting 'mutual assessment' to decide whether to escalate the contest, and then changing to 'self-assessment' to decide whether to persist with the escalation (Hsu et al., 2008). Overall, our results demonstrated that wasps are able to use different cues at each phase of the conflict to make their behavioural decisions.

The mechanisms underlying the identification of genetic relatedness and familiarity remain to be explored in *E. vuilleti*. However, *E. vuilleti* females are known to adjust their behaviour based on the detection of conspecific cuticular hydrocarbons (CHC; Darrouzet et al., 2010). Because the wasps in our study discriminated competitors of the same genotype and those from the same seed, they may have detected genetically encoded or environmentally influenced differences in the CHC profile of their opponent. Studies in parasitoid hymenoptera suggest that CHC may be characteristic of related individuals (Holler et al., 1991; Howard, 2001). Several studies have also measured biochemical convergence between the surface lipids of host plants and cuticular compounds of insect herbivores and their predators or parasitoids (reviewed in Blomquist & Bagnères, 2010). Kühbandner et al. (2012) found, in the pteromalid wasp *Lariophagus distinguendus*, that changing hosts during only one generation led to females having distinguishable CHC profiles. Moreover, since familiar *E. vuilleti* females came from the same seed on which the hosts fed, it is possible that females developing on hosts that exploit the same resource might express a similar biochemical profile that allows for recognition of familiar individuals (Ode et al., 1995; Singer, 1998). For example, Von Beeren et al. (2011) showed that ant parasites *Malayatelura ponerophila* acquire CHCs directly from their host *Leptogenys distinguenda*. However, *E. vuilleti* females may have simply acquired seed-specific compounds by friction when emerging out of the seed. Physical contact can also generate variation in the chemical CHC profile: when stroking their abdomens on the nest surface of their host, both parasite species *Sulcopolistes sulcifer* and *Polistes semenowi* acquire host hydrocarbons from the comb (Turillazzi et al., 1990; Zacchi et al., 1995). Moreover, in social wasps, a hydrocarbon layer similar to that of resident wasps covers the nest paper, so that physical contact between the parasite cuticle and nest hydrocarbons may favour the transfer of odours

between parasites and comb (Lorenzi et al., 1996; Singer, 1998). Further studies are needed to test these hypotheses and identify the cues involved in the different components of kin recognition.

Conclusion

By investigating the effects of both genetic relatedness and common developmental environment on contest behaviour and resolution in *E. vuilleti*, we were able to demonstrate that two kin recognition components (phenotypic matching and familiarity) mediate the occurrence of escalated conflicts and contest resolution in a parasitoid wasp. We showed for the first time that both components can interact to affect intraspecific competition in a solitary insect species. Additionally, in species with limited dispersion such as *E. vuilleti* (Cortesero et al., 1997), high competition risk for resources between kin may weaken the evolution of reducing aggressive behaviours towards related conspecifics (West et al., 2001, 2002). Our study therefore shows that kin discrimination during intraspecific competition can also evolve in a species with limited dispersion.

Acknowledgements

We are grateful to Berenice Chesnais for her valuable help during preliminary experiments, Joel Meunier and Frank Dedeine for their advice and Fabrice Vannier for his technical assistance. We thank Dr Ryan L. Earley, Dr H. Marshall and two anonymous referees for helpful comments on the manuscript.

Partie III

Le rôle des hormones

Chapitre 5 : Revue de la littérature

L'hypothèse du challenge fournit un cadre conceptuel pour comprendre pourquoi les taux d'hormones androgènes comme la testostérone varient avec les saisons, et pour étudier le lien que ces variations peuvent avoir avec le changement de comportement des mâles en situation de conflit pour la reproduction. Initialement développée pour les oiseaux, puis étendue aux autres vertébrés, son application aux insectes semble maintenant prometteuse, même si les recherches explorant le lien entre hormones et comportements agonistiques durant les conflits chez les insectes ne font que commencer.

La plupart des études sur l'hypothèse du challenge chez les insectes s'est focalisée sur la JH car elle a de nombreuses fonctions similaires à celles des hormones androgènes. La revue de la littérature que nous avons menée dans ce chapitre met en évidence que les taux de JH des individus en situation de compétition varient à court et à long termes chez divers ordres d'insectes. De plus, nous montrons que si les ESH sont une autre famille d'hormones d'intérêt, encore trop peu d'études se sont intéressées au lien entre les taux d'ESH et l'agressivité des individus pour permettre d'établir un pattern particulier. Il est donc encore difficile de faire le parallèle entre leur fonction et celle des androgènes. Nous notons également que la recherche sur les hormones présente d'importants défis méthodologiques chez les insectes. La quantification hormonale est particulièrement difficile en raison de la petite taille de leur corps et des faibles taux d'hormone circulante correspondants, et il n'existe pas encore de méthodologie standardisée pour les manipulations hormonales.

Jusqu'ici, moins de 30 espèces d'insectes ont été étudiées dans le cadre de l'hypothèse du challenge, et la majorité d'entre elles appartiennent à seulement 3 ordres (hyménoptères, blattoptères et coléoptères). Des recherches additionnelles à travers les taxa sont nécessaires pour élargir notre compréhension de l'évolution de l'action des hormones sur le comportement des insectes et tester la convergence fonctionnelle de ces hormones avec celles des vertébrés.

“Challenge accepted.”

Barney Stinson, *How I Met Your Mother*

Chapitre 5

Revue de la littérature

The Challenge Hypothesis in insects

Tibbetts Elizabeth A., Laub Emily C.*, Mathiron Anthony G.E.* & Goubault Marlène. Hormones and Behavior

Note: *authors contributed equally

Summary

The ‘challenge hypothesis’ provides a predictive framework for how the social environment influences within-species variation in hormone titers. High testosterone levels are beneficial during reproduction and competition, but they also impose costs because they may suppress traits like parental care and immunity. As a result, the challenge hypothesis predicts that individuals will change their testosterone levels to match the current social environment. Although the vast majority of work on the challenge hypothesis has focused on androgens in vertebrates, there is growing evidence that insect hormones, especially juvenile hormone (JH), may respond to social stimuli in ways that parallel androgens in vertebrates. Many insects rapidly upregulate JH titers during social competition with rivals. Some insects also modulate JH titers based on contest outcomes, with winners upregulating JH and losers downregulating JH. This review will integrate work on social modulation of hormone titers in vertebrates and insects. First, we provide background on insect hormones and describe the functional parallels between androgens and JH. Second, we review evidence that insects rapidly change JH titers in response to social competition. Finally, we highlight opportunities for future work on social modulation of hormones in insects. Overall, the challenge hypothesis provides a useful conceptual framework for hypothesis-driven research in insect endocrinology. Comparing vertebrates and insects provides insight into how selection has shaped patterns of hormone responsiveness as well as the generality of hypotheses originally developed for vertebrates.

Key words: Challenge hypothesis; juvenile hormone; androgens; insects; competition; ecdysteroids

Introduction

The ‘challenge hypothesis’ is an influential framework developed by Wingfield and colleagues to explain within-species variation in testosterone secretion. Wingfield (Wingfield et al., 1990) noted that high testosterone levels are important for successful male-male competition, but high testosterone can suppress parental care and immunity. As a result, males are predicted to change their testosterone levels to match the current social environment. Specifically, males will have short-term surges in testosterone during periods of social instability (e.g. competition over mates or territories), while testosterone levels will remain low during non-competitive periods. In recent years, research on the challenge hypothesis has broadened to provide a general framework for field endocrinology. Current work is exploring the nuances of hormone/behavior relationships as well as the different ways the endocrine system responds to the social environment. For example, factors like social context, natural history, and taxonomic group influence hormone actions and social responsiveness (Fuxjager & Marler, 2010; Goymann et al., 2007; Hirschenhauser & Oliveira, 2006).

Although the vast majority of work on socially modulated hormones has focused on androgens in vertebrates, there is growing evidence that the challenge hypothesis also applies to insect hormones (Scott, 2006a). Levels of the key insect hormones juvenile hormone (JH) and ecdysteroids (ESH) change in response to the social environment. Consistent with predictions of the challenge hypothesis, levels of insect hormones often increase during periods of social instability such as competition over territories and are influenced by dominance rank (Tibbetts & Crocker, 2014). Despite some promising results, we still have much to learn about how insect hormone levels influence and respond to the social environment.

Studying insect hormones has great potential to broaden our understanding of social endocrinology. Insects are a diverse group with enormous variation in hormone action. As a result, they provide a good opportunity to test how and when hormone function interacts with the social responsiveness of hormones. For example, JH influences fertility and agonistic behavior in some but not all taxa (Corona et al., 2007; Flatt & Kawecki, 2007). As a result, we can test whether the social responsiveness of JH differs across taxa as its function changes. For example, JH may be more socially responsive in taxa where it mediates agonistic behavior than in taxa where it does not. Insects also provide a useful comparison to vertebrates because insect and vertebrate hormones have different evolutionary histories and work in different physiological backgrounds. Testing similarities and differences between insects and vertebrates may clarify how selection has shaped hormone responsiveness across taxa as well as the generality of hypotheses developed for vertebrates. Finally, much field endocrinology research has focused on vertebrates, so insect researchers may benefit by using the conceptual framework developed by vertebrate researchers to understand variation in insect hormones.

This review will integrate work on social modulation of hormone titers in vertebrates and insects. The challenge hypothesis is a broad framework for field endocrinology that addresses how sexual, parental, and agonistic behavior influences hormone titers. This review will focus on the agonistic context because there has been relatively little research on insect hormones in other social contexts. We will 1) provide background on key insect hormones and the functional parallels between insect hormones and androgens, 2) describe difficulties associated with applying the challenge hypothesis to insects, 3) review existing work on how insect hormones respond to social interactions in agonistic contexts, and 4) highlight opportunities for future research on insects.

Overview of insect hormones

This review will focus on juvenile hormone (JH) and will only briefly present the few studies concerning ecdysteroid hormones (ESH).

Juvenile hormone

JH is a class of sesquiterpenoid lipid-like hormones. They influence metamorphosis as well as many aspects of adult behavior and physiology including diapause, sexual behavior, the circadian clock, and caste differentiation (Nijhout, 1994).

The challenge hypothesis is based on two key aspects of androgen function. First, high levels of androgens are beneficial during reproduction and/or competition. Second, high levels of androgens are disadvantageous in other contexts (e.g. survival, parental care, immunity), so it is not beneficial to have high androgen titers all the time. As a result, males change androgen levels to match the current social environment. There is strong empirical work supporting both aspects of androgen function in a broad range of vertebrate taxa (Adkins-Regan, 2005; Ketterson & Nolan, 1999). Despite this general support, androgen function is variable and context-dependent. As a result, precise androgen effects are influenced by factors like social context, receptor distribution, timescale, and taxonomic group (Hau, 2007; Wingfield et al., 2018). Nevertheless, there is wide-ranging evidence that androgens are beneficial during competition and costly in other contexts.

Most of the research applying the challenge hypothesis to insects has focused on JH because JH and androgens have important functional similarities (**Fig. 5.1**). First, high levels of JH are beneficial during reproduction and/or competition in most solitary insects and social insects that lack discrete castes. JH is strongly linked with reproduction because it stimulates production of yolk protein precursors (vitellogenins) and yolk protein uptake by oocytes (Roy et al., 2018). As a result, high JH titers are positively associated with female fertility, and treatment with JH increases fertility in many taxa (Flatt & Kawecki, 2007; Tibbetts & Izzo, 2009; Tibbetts & Crocker, 2014). JH is also positively linked with success during social competition, including dominance and aggression (Bloch et al., 2000a; Kou et al., 2009; Tibbetts & Izzo, 2009; Mathiron et al., in press; **Table 5.1**). However, the positive effect of JH on aggression and dominance rank is not universal (Scott, 2006b; Kelstrup et al., 2015).

The way insects respond to JH is influenced by variation in their internal state and experience. Just like in vertebrates (Hau & Goymann, 2015), insect hormone responses are flexible and context-dependent. For example, JH injection increase aggression in young *N. cinerea* males (Kou et al. 2009) and in males ‘not-ready-to-fight’ (i.e. males that do not use aggressive postures, Kou et al. 2008b), but JH does not influence aggression in older, ‘aggressive posture-adopting’ males. These results are consistent with social inertia in vertebrates; testosterone influences dominance rank during contests among unfamiliar rivals, but other mechanisms maintain hierarchies after they have been established. Similarly, the strength of the link between JH and dominance varies with social context in *Polistes* paper wasps. JH mediates dominance and aggression in contests between unfamiliar nest-founding queens, but JH does not influence rank in stable cooperating groups (Tibbetts & Huang, 2010; Tibbetts et al., 2011a). The effect of JH on *Polistes dominula* fertility and dominance also varies with individual condition; JH has stronger effects on the dominance and fertility of individuals in good condition than those in poor condition (Tibbetts & Izzo, 2009). Context-dependent variation in endocrine response has been well-studied in vertebrates and is likely to be just as common in insects. While there is broad evidence that JH

is involved in reproduction and competition in insects, we're still in the early stages of understanding factors that produce variation in JH function.

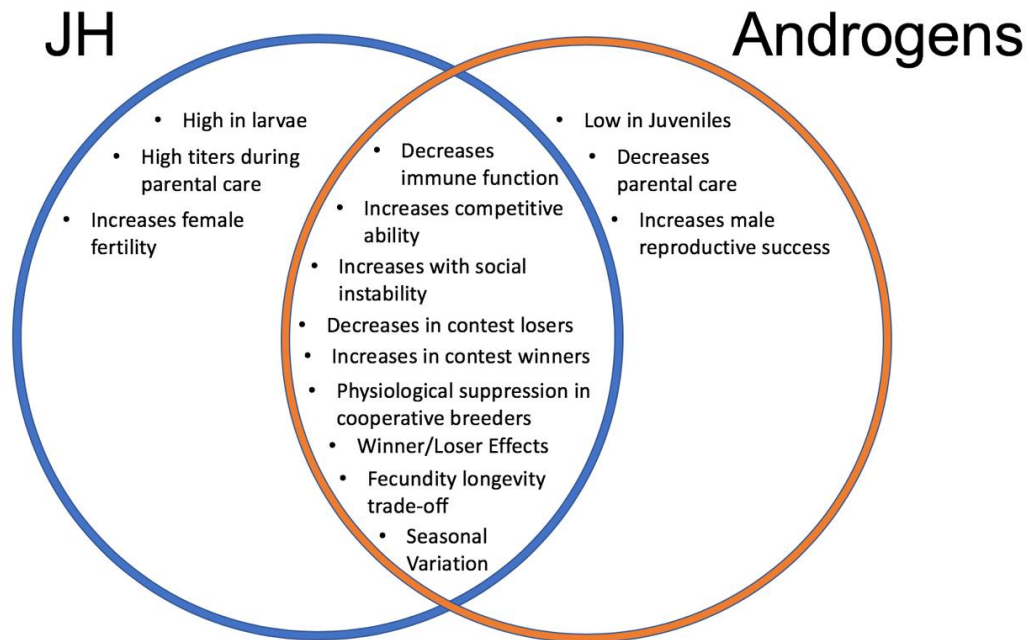


Figure 5.1. Vendiagram of JH and Androgen activity and function. JH and androgens respond similarly during social challenge, but impact parental care differently. JH also mediates metamorphosis, a physiological change that does not occur in vertebrates.

One aspect of variation in JH response that has been well-studied is the effect of JH on insects with varying levels of sociality. While JH has generally positive effects on reproduction and competition in insects, JH has different effects in social insects with discrete castes (Robinson & Vargo, 1997; Hartfelder, 2000). In highly social bees, JH does not influence fertility (Robinson & Vargo, 1997; Corona et al., 2007). In some social ants, high JH reduces queen fertility (Pamminger et al., 2016). Variation in JH function changes offers opportunities for additional theory and experiments exploring how divergent life history and hormone function influences social responsiveness of hormones.

The second key way JH function parallels androgen function is that high levels of JH are disadvantageous in some contexts. High JH titers reduce survival and immune function in many insects (Flatt & Kawecki, 2007). The survival and immune costs associated with JH are conserved across many taxa (Tatar & Yin, 2001; Tibbetts & Banan, 2010; Pamminger et al., 2016). One way the costs of JH and androgens differ is that reduced parental care is thought to be one of the key costs associated with high androgen titers, while there is no evidence that high JH reduces insect parental care (Trumbo, 1997).

Table 5.I. The Challenge hypothesis and the Juvenile Hormone in insects.

Order Family Species	Sociality degree	Ind.	Constitutive titers	Do challenges affect JH titers?		Does JH manipulation affect challenges?				JH-aggression relationship?
				Short-term response	Long-term response	Type of manipulation	Agonistic behaviors	Short-term effect	Long-term effect	
Challenge Hypothesis predictions:				+	+		+	+	+	+
Orthoptera										
Acrididae										
<i>Nomadacris septemfasciata</i>	NS	♂				Allalectomy ⁽¹⁾	+(1)			+(1)
<i>Schistocerca gregaria</i>	NS	L				TA of JHIII ⁽²⁾	+(2)			+(2)
		♂/♀				TA of fenoxycarb ⁽²⁾	+(2)			+(2)
						TA of KA 4580 ⁽²⁾				
						TA of BASF228743 ⁽²⁾				
<i>Locusta migratoria</i>	NS	L				TA of JHIII ⁽²⁾	+(2)			+(2)
		♂/♀				TA of fenoxycarb ⁽²⁾	+(2)			+(2)
						TA of KA 4580 ⁽²⁾				
						TA of BASF228743 ⁽²⁾				
Gryllidae										
<i>Gryllus campestris</i>	NS	♂				Allalectomy ⁽³⁾		0 ⁽³⁾	0 ⁽³⁾	0 ⁽³⁾
						TA of JHIII ⁽³⁾		0 ⁽³⁾	0 ⁽³⁾	
<i>Gryllus bimaculatus</i>	NS	♂				Allalectomy ⁽³⁾		0 ⁽³⁾	0 ⁽³⁾	0 ⁽³⁾
						TA of JHIII ⁽³⁾		0 ⁽³⁾	0 ⁽³⁾	
Lepidoptera										
Nymphalidae										
<i>Vanessa cardui</i>	NS	♂				TA of Methoprene ⁽⁴⁾	+(4)	+(4)		+(4)
Odonata										
Calopterygidae										
<i>Calopteryx virgo</i>		♂				TA of Methoprene ⁽⁵⁾	+(5)			+(5)
Diptera										
Tephritidae										
<i>Anastrepha suspense</i>	NS	♂				TA of Methoprene ⁽⁶⁾	+(6)	+(6)		+(6)
Blattodea										
Blaberidae										
<i>Gromphadorhina brunneri</i>	P	♂				Allalectomy ⁽⁷⁾	0 ⁽⁷⁾			0 ⁽⁷⁾
<i>Supella supellectilium</i>	P	♂				Allalectomy ⁽⁸⁾	+(8)			+(8)
<i>Nauphoeta cinerea</i>	P	♂	NA-posture < A-posture ⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾	+(after antenna contact ⁽¹¹⁾⁽¹⁵⁾ +winners ⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾ -losers ⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾	+(dominants ⁽¹²⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁶⁾ -subordinates ⁽¹⁴⁾⁽¹⁶⁾	Allalectomy ⁽⁹⁾ TA of JHIII ⁽¹⁰⁾ TA of precocene II ⁽¹⁰⁾ Inject. of JHIII ⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾				
							+(13)	+(13)(14)	+(13)(14)	+(11)(12)(13)(15)(16)
							0 ⁽¹⁴⁾			0 ⁽¹⁴⁾

Table 5.I. The Challenge hypothesis and the Juvenile Hormone in insects.

Order Family Species	Sociality degree	Ind.	Constitutive titers	Do challenges affect JH titers?		Does JH manipulation affect challenges?				JH-aggression relationship?
				Short-term response	Long-term response	Type of manipulation	Agonistic behaviors	Short-term effect	Long-term effect	
Challenge Hypothesis predictions:				+	+		+	+	+	+
Blattodea										
Rhinotermitidae										
<i>Coptotermes formosanus</i>	AE	W	W < soldiers (in the field) ⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾		+in summer ⁽¹⁸⁾					
Coleoptera										
Silphidae										
<i>Nicrophorus orbicollis</i>	P	♂		+(19)		TA of Methoprene ⁽²⁰⁾	+(20)	0 ⁽²⁰⁾		+(19)(20)
		♀		+(19)		TA of Methoprene ⁽²⁰⁾	+(20)	0 ⁽²⁰⁾		+(20)
						TA of JHIII ⁽²¹⁾	0 ⁽²¹⁾	0 ⁽²¹⁾	0 ⁽²¹⁾	0 ⁽²¹⁾
<i>Nicrophorus tomentosus</i>	P	♀				TA of Methoprene ⁽²⁰⁾	+(20)	0 ⁽²⁰⁾		+(20)
<i>Nicrophorus pustulatus</i>	P	♂	♂ < ♀ ⁽¹⁹⁾	0 ⁽¹⁹⁾						
		♀		0 ⁽¹⁹⁾		TA of JHIII ⁽²¹⁾	0 ⁽²¹⁾	0 ⁽²¹⁾	0 ⁽²¹⁾	0 ⁽²¹⁾
Hymenoptera										
Eupelmidae										
<i>Eupelmus vuilleti</i>	NS	♀				Inject. of JHIII ⁽²²⁾	+(22)	0 ⁽²²⁾		+(22)
Halictidae										
<i>Megalopta genalis</i>	FE	Q W	W < Q and foundresses ⁽²³⁾							
Vespidae										
<i>Polistes annularis</i>	PE	W				TA of JHIII ⁽²⁴⁾ TA of ZR-520 ⁽²⁴⁾ TA of ZR-515 ⁽²⁴⁾ TA of ZR-512 ⁽²⁴⁾	+(24)			+(24)
<i>Polistes smithii</i>	PE	Q	Lone foundresses < subordinates ⁽²⁵⁾							0 or - ⁽²⁵⁾
<i>Polistes canadensis</i>	PE	Gynes W	Nurses = foragers < guards < gynes ⁽²⁶⁾			TA of Methoprene ⁽²⁶⁾	+(26)			+(26)
<i>Polybia micans</i>	PE	Q	W = Q ⁽²⁷⁾		+nest-founding phase ⁽²⁷⁾					0 or + (change with social conditions) ⁽²⁷⁾
		W			+queenless attackees ⁽²⁷⁾					- ⁽²⁷⁾
<i>Synoecca surinama</i>	PE	Q W	W < Q ⁽²⁸⁾		+queenless workers ⁽²⁸⁾	TA of JHIII ⁽²⁸⁾ TA of Methoprene ⁽²⁸⁾	0 ⁽²⁸⁾ 0 ⁽²⁸⁾			0 ⁽²⁸⁾

Sociality degree: NS: Non Social; P: Presocial; FE: Facultative Eusocial; PE: Primitive Eusocial; AE: Advanced Eusocial

Ind. (targeted Individuals): ♂: males; ♀: females; L: Larvae; Q: Queens; W: Workers

Constitutive titers: =: not significantly different; <: significantly lower

Short-term JH response / short-term JH effect of JH: observations within hours; -: negative JH response (downregulation or lower titers) / negative JH effect; 0: no JH response / no JH effect; +: positive JH response (upregulation or higher titers) / positive JH effect

Long-term JH response / long-term JH effect of JH: observations within days; negative JH response (downregulation or lower titers) / negative JH effect; 0: no JH response / no JH effect; +: positive JH response (upregulation or higher titers) / positive JH effect

Type of manipulation: TA: Topical Application; Inject.: Injection; Ingest.: Ingestion

JH-aggression relationship: direct or indirect link between JH titers response/effect and agonistic behaviors; -: negative link; 0: no link evidence; +: positive link

References list: ⁽¹⁾Pener, 1968; ⁽²⁾Wiesel et al., 1996; ⁽³⁾Adamo et al., 1994; ⁽⁴⁾Bergin, 2007; ⁽⁵⁾Contreras-Garduño et al., 2009; ⁽⁶⁾Pereira et al., 2009; ⁽⁷⁾Ziegler, 1972; ⁽⁸⁾Pathak & Mukerji, 1989; ⁽⁹⁾Schal & Bell, 1983; ⁽¹⁰⁾Chen et al., 2005; ⁽¹¹⁾Chou et al., 2007; ⁽¹²⁾Kou et al., 2008a; ⁽¹³⁾Kou et al., 2008b; ⁽¹⁴⁾Kou et al., 2009; ⁽¹⁵⁾Kou & Hsu, 2013; ⁽¹⁶⁾Kou et al., 2019; ⁽¹⁷⁾Park & Raina, 2005; ⁽¹⁸⁾Liu et al., 2005; ⁽¹⁹⁾Scott, 2006a; ⁽²⁰⁾Scott, 2006b; ⁽²¹⁾Trumbo 2007; ⁽²²⁾Mathiron et al., 2019; ⁽²³⁾Smith et al., 2013; ⁽²⁴⁾Barth et al., 1975; ⁽²⁵⁾Kelstrup et al., 2015; ⁽²⁶⁾Giray et al., 2005; ⁽²⁷⁾Kelstrup et al., 2014a; ⁽²⁸⁾Kelstrup et al., 2014b; ⁽²⁹⁾Kelstrup et al., 2017; ⁽³⁰⁾Röseler et al., 1980; ⁽³¹⁾Röseler et al., 1984; ⁽³²⁾Tibbetts & Izzo, 2009; ⁽³³⁾Tibbetts & Huang, 2010; ⁽³⁴⁾Tibbetts et al., 2011; ⁽³⁵⁾Tibbetts et al., 2013; ⁽³⁶⁾Tibbetts et al., 2018; ⁽³⁷⁾Van Doorn, 1989; ⁽³⁸⁾Larrere & Couillaud, 1993; ⁽³⁹⁾Block et al., 2000a; ⁽⁴⁰⁾Amsalem et al., 2014a; ⁽⁴¹⁾Amsalem et al., 2014b; ⁽⁴²⁾Breed, 1983; ⁽⁴³⁾Robinson et al., 1991; ⁽⁴⁴⁾Huang et al., 1994; ⁽⁴⁵⁾Pearce et al., 2001; ⁽⁴⁶⁾Lengyel et al., 2007; ⁽⁴⁷⁾Penick et al., 2011; ⁽⁴⁸⁾Cuvillier-Hot et al., 2004; ⁽⁴⁹⁾Brent et al., 2006; ⁽⁵⁰⁾Sommer et al., 1993

Ecdysteroid hormones

Another important class of insect hormones are the ecdysteroid hormones (ESH). Thus far, little is known about the functional parallels between ESH and androgens. Androgens and ESH are both steroid hormones, so there is greater structural similarity between ESH and androgens than JH and androgens. Functionally, ESH is linked with fertility, as ESH stimulates the uptake of yolk in developing oocytes (Nijhout, 1994). However, the few studies measuring links between ESH titers, dominance rank, and aggressiveness found inconsistent results (**Table 5.2**). Some found a positive correlation between ESH levels and reproductive or dominance status (*Bombus terrestris*: Geva et al., 2005; *Streblognathus peetersi*: Brent et al., 2006) or with victory during fights (*E. vuilleti*: Mathiron et al., in prep), while others found no relationship (*Polistes smithii*, Kelstrup et al., 2015). Therefore, there is no consistent relationship between ESH and competitive interactions. We also lack data on whether high ESH levels are associated with costs such as lowered immunity or survival. Therefore, current data suggest ESH and androgens may have limited functional similarities.

Although this review addresses JH and ESH separately, there is important crosstalk between JH and ESH. A range of developmental, behavioral, and physiological studies have shown that experimental treatment with one hormone causes a response in the other hormone (Nijhout, 1994). Further, some genes are regulated by both JH and ESH (Jindra et al., 2013). Therefore, JH and ESH may work in concert to regulate many aspects of insect behavior.

Difficulties of applying the challenge hypothesis to insects

Applying the challenge hypothesis across taxa and contexts is difficult for multiple reasons. First, there are substantial methodological challenges in insect hormone research. Hormone quantification in insects is particularly difficult because of their small body size and the associated low titers of circulating hormone, often in the femtomole to picomole range (Trumbo & Robinson, 2008). In addition, JH is difficult to manipulate because it is a small molecule that adheres to surfaces and is unstable (JHIII half-life 1.5h; Scott, 2006a). To date, most JH quantification used radioimmunoassay (Huang et al., 1994; **Table 5.1**, but see Ramirez et al., 2016 for a review of other techniques). Insects are typically bled to death to gather sufficient hemolymph. In some cases, samples from multiple individuals must be pooled prior to analysis. There is only one case where JH titers were measured multiple times in the same individual (Kou et al., 2019). Such methodological constraints limit our ability to quantify intra- and inter-individual variation in JH titers. As a result, we need more sensitive JH measurement methods. One intriguing new method uses high performance liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. According to the authors, this method detects smaller amounts of JH than existing technologies and also requires a limited number of sample preparation steps (Ramirez et al., 2016; Nouzova et al., 2018). This novel approach will open new opportunity for future research on JH social modulation in other insects.

Another methodological difficulty associated with insect behavioral endocrinology is the lack of standard methodology for insect hormone treatment. Many studies treat insects with JH analogs rather than JHIII. Wiesler et al. (1996) tested 3 different JH analogs (fenoxycarb, BASF 228743 and KA 4580) as well as JHIII in *Schistocerca gregaria* individuals (Wiesel et al., 1996). Crowded adults treated with any of the analogs had a stronger social response to simulated social confrontation than control

Table 5.2. The Challenge hypothesis and the ESH in insects.

[illegible]

Sociality degree: NS: Non Social; P: Presocial; FE: Facultative Eusocial; PE: Primitive Eusocial; AE: Advanced Eusocial

Ind. (targeted Individuals): ♂: males; ♀: females; Q: Queens; W: Workers

Constitutive titers: =: not significantly different; <: significantly lower

Short-term ESH response / short-term ESH effect of ESH: observations within hours; -: negative ESH response (downregulation or lower titers) / negative ESH effect; 0; no ESH response / no ESH effect; +: positive ESH response (upregulation or higher titers) / positive ESH effect

Long-term ESH response / long-term ESH effect of ESH: observations within days; negative ESH response (downregulation or lower titers) / negative ESH effect; 0; no ESH response / no ESH effect; +: positive ESH response (upregulation or higher titers) / positive ESH effect

Type of manipulation: TA: Topical Application; Inject.: Injection; Ingest.: Ingestion

ESH-aggression relationship: direct or indirect link between ESH titers response/effect and agonistic behaviors; -: negative link; 0: no link evidence; +: positive link

References list: ⁽⁹⁾Schal & Bell, 1983; ⁽⁵¹⁾Mathiron et al., (in prep); ⁽³¹⁾Roseler et al., 1984; ⁽²⁵⁾Kelstrup et al., 2015; ⁽³⁷⁾Van Doorn, 1989; ⁽⁵²⁾Block et al., 2000b; ⁽⁵³⁾Geva et al., 2005; ⁽⁴³⁾Robinson et al., 1991; ⁽⁵⁴⁾Hartfelder et al., 2002; ⁽⁴⁷⁾Penick et al., 2011; ⁽⁴⁹⁾Brent et al., 2006.

individuals, while JHIII had little effect. Different effects of JH vs JH analogs may occur because JHIII is unstable and has a shorter half-life than JH analogs (JHIII half-life 1.5h; methoprene half-life 10 h (Scott, 2006a). Another source of variation in previous JH treatment studies is that insects are usually treated by dripping JH or JH analogs on the cuticle. Studies typically do not measure how much hormone enters the hemolymph. We now have the technology to inject small quantities without harming insects and this new method is likely to yield more consistent results (Mathiron et al., 2019).

The second major difficulty associated with studying the challenge hypothesis is the way the endocrine system responds to social cues is flexible and context-dependent (Gleason et al., 2009; Hau & Goymann, 2015; Hirschenhauser et al., 2008). As a result, it is difficult to make predictions that are broadly applicable across taxa and contexts. The variation in endocrine system response is likely adaptive because it allows animals to flexibly match their behavior to their environment. However, the variation can make it difficult to draw general conclusions from a small number of studies. Thus far, relatively few studies have tested how insect hormones respond to the social environment. As a result, this review will focus on testing a few key predictions about how insect hormones respond to agonistic interactions rather than providing an in-depth analysis of when and why hormone responsiveness varies.

Finally, there is accumulating evidence that an animal's endocrine system may respond to a social challenge in multiple ways. Originally, research focused on how the social environment altered sex steroids in the blood stream via the HPG axis (Wingfield et al., 1990). However, endocrine responses are not limited to changes in circulating androgens. Endocrine response to an aggressive challenge may be mediated by local production of sex steroids in specific areas of the brain, alteration in the number and distribution of hormone receptors, or changes in transport or degradation (Wingfield et al., 2018). Therefore, an animal's endocrine system may respond to a social challenge without changes in circulating hormone levels. This review will focus on how agonistic interactions alter circulating hormone levels in insects because we lack data on other aspects of endocrine system response. Future work will be important to understand how hormone secretion, transport, and response interact to produce behavioral and physiological responses to a social challenge.

Short-term social challenge

Vertebrates

Much of the literature on social modulation of androgens has focused on rapid, short-term increases in androgens during periods of social instability (reviewed in Oliveira, 2004). A 'short-term' androgen change is one that occurs over a period of hours rather than days. A common method used to increase perceived social instability is to simulate territorial intrusions by introducing live rivals, models, or rival songs to a male's territory (Wingfield and Lewis, 1993). Androgen titers increase in response to territorial intrusion in at least some male fish, mammals, and birds (Buck & Barnes, 2003; Goymann et al., 2007; Hirschenhauser et al., 2004; Hirschenhauser et al., 2003). However, other studies have found no evidence of androgen upregulation in response to territorial intrusion, perhaps because of differences in social context, natural history of focal species, or experimental protocol (Apfelbeck & Goymann, 2011; Villavicencio et al., 2013).

Insects

In insects, there is evidence that a transient social challenge rapidly increases juvenile hormone titers. Scott (Scott, 2006a) initiated research on the challenge hypothesis in insects by showing that Burying Beetles increase their JH titer in response to an aggressive challenge over carcass ownership. Scott's results were extremely influential because they provided the first evidence that JH rapidly changes in response to the social environment. However, the work was subsequently criticized because JH is not involved in burying beetle aggression or carcass defense (Trumbo, 2007). As a result, the function of the JH upregulation is unclear.

Subsequent work in *Nauphoeta cinerea* cockroaches provided compelling evidence that a territorial intrusion causes rapid JH upregulation. Male cockroaches are territorial and they upregulate both JH titers and agonistic behavior when exposed to pheromones from unfamiliar males (Chou et al., 2007). The JH upregulation in the presence of unfamiliar males may facilitate territorial defense, as high JH increases the probability that males win contests with other males (Kou et al., 2009).

Finally, (Shpigler et al., 2017) and colleagues tested the behavioral and transcriptional response of guard honeybees to unrelated intruder bees. Guards were intensely aggressive to intruders. The mushroom bodies of guards also showed broad transcriptomic responses to the intrusion, and many of the altered transcription factors were involved in the JH signaling pathway. While the study did not measure JH titers directly, the rapid changes in the JH signaling pathway suggest that JH is involved in honeybee defensive responses to an intrusion (Shpigler et al., 2017).

Overall, there is promising preliminary evidence that JH rapidly responds to a territorial intrusion. However, additional research across taxa and social contexts will be important to identify how frequently hormones respond to short-term social challenges and the fitness consequences of the hormonal responses.

Longer-term social challenge

Vertebrates

Some of the strongest support for the challenge hypothesis comes from many studies that find long-term social instability produces persistent changes in androgens. Animals that experience social instability and frequent aggressive challenges often have higher constitutive androgen titers than animals that live in stable environments with few social challenges. For example, androgens are typically higher during the breeding season than non-breeding season, perhaps because there is more social and sexual competition during the breeding season (Wingfield et al., 1987). Similarly, high social density is often linked with high androgen levels, and there is greater competition in denser environments (Hirschenhauser et al., 2003). The heightened androgen titers are thought to improve competitive success (Wingfield et al., 2001).

Insects

In insects, both correlational and experimental studies indicate that long-term social instability increases JH. The first experimental test of the link between JH and social instability focused on *Polistes dominula* paper wasps (Tibbetts & Huang, 2010). In *Polistes*, workers are capable of reproducing, and workers compete to take over as the new queen when the original queen disappears. As a result, removing

the queen is a good way to increase social instability among workers. Consistent with predictions of the challenge hypothesis, *Polistes* worker JH titers and aggression significantly increased in the 5 days after queen removal. The increased JH titer likely improves worker competitiveness because JH mediates agonistic and dominance behavior in *Polistes dominula* (Tibbetts & Izzo, 2009; Tibbetts et al., 2011a). Further, the worker who takes over as the new queen has higher JH than other wasps (Tibbetts & Huang, 2010).

Subsequent research in two other social wasps (*Polybia micans* and *Synoecca surinama*) also showed that worker JH titers increase when the queen is removed from a nest (Kelstrup et al., 2014a, b). In *Polybia micans*, worker aggression and JH titer increase after queen removal. Three days after queen removal, worker aggression and JH declined and remained low thereafter (Kelstrup et al., 2014a). In *Synoecca surinama*, worker JH increases after queen removal, but there was little overall change in aggression. Instead, certain workers increase ritualized dominance postures after queen removal (Kelstrup et al., 2014b). Queen removal did not influence aggression in *Synoecca surinama* because these wasps live in large colonies where rank is mediated by ritualized posturing rather than aggressive competition. As a result, JH upregulation after queen removal in *Synoecca surinama* may be more involved in activating ovarian development in potential reproductives than aggressive competition. Overall, the three studies provide strong experimental evidence that queen removal heightens social conflict and causes JH upregulation. However, it is still unclear how much of the JH upregulation in workers mediates aggressive competition vs reproductive activation.

Correlational studies in multiple contexts also suggest that high JH is associated with conflict. In many social insects, guards have higher JH titers than other castes. For example, in *Polistes* wasps and honeybees, guards have higher JH titers than non-guards, when age and/or reproductive status are controlled for (Huang et al., 1994; Giray et al., 2005). Guards also participate in the most frequent social conflict, as they aggressively defend their nest against conspecific and heterospecific intruders daily. The higher JH may help guards fight off intruders as high JH is positively associated with aggression in *Polistes* and honeybee workers (Pearce et al., 2001). In the facultative eusocial bee, *Megalopta genalis*, reproductive queens have higher JH when living in a social group than when living alone, suggesting that JH could be involved in maintaining dominance in social groups. However, controlled experiments are still needed to test whether JH mediates social dominance in *Megalopta genalis* (Smith et al., 2013).

Seasonal hormone variation also provides general support for the link between high hormone titers and long-term social instability. Most insects have lower JH titers in winter than in summer, a pattern consistent with the seasonal variation in androgens seen in many vertebrates (Nijhout, 1994). Seasonal variation may partially reflect differences in social conflict across seasons, especially in species that do not experience diapause. However, at least some of the seasonal variation in JH is likely due to the role of JH in diapause regulation in many insects (Nijhout, 1994; Tibbetts et al., 2011b). Therefore, experimental studies are important to establish how different factors contribute to seasonal variation in hormone titers.

Short-term response to dominance rank

Vertebrates

The second main context in which agonistic interactions influence hormone titers is during aggressive competition over dominance rank. Dominants typically have higher androgen titers than subordinates (Adkins-Regan, 2005). The relationship between androgens and dominance occurs for two reasons. First,

individuals with high androgen titers are more likely to win contests than individuals with low androgens titers (Hirschenhauser & Oliveira, 2006). Second, the difference in androgens between dominants and subordinates may increase after contests when contest outcomes alter androgen titers. Contest winners sometimes upregulate androgens, and contest losers often downregulate androgen titers (Hsu et al., 2006; Oliveira, 2009). How androgens respond to contest outcomes varies across taxa, social contexts, and mating system (e.g. Schuett et al., 1996). In some taxa, the hormonal response to contest outcomes mediates the winner-loser effect. For example, androgen upregulation after winning a contest can make winners more aggressive or willing to engage in aggressive competition, while androgen downregulation after losing a fight makes winners less competitive (Oliveira et al., 2009). Therefore, androgen titers both influence and respond to aggressive contests.

Insects

The first insect studies to show that contest outcomes rapidly change an individual's JH titer were done in the lobster cockroach, *Nauphoeta cinerea*. Male cockroaches often compete over rank and territory ownership. Kou (Kou et al., 2008) found that male JH levels rise after males win a fight. They followed up this initial study with a more detailed analysis, finding JH titers in *Nauphoeta cinerea* both influence and respond to dominance contest (Kou et al., 2019). High JH titers contribute to male dominance, as individuals with high JH are more aggressive than those with low JH. JH titers are also altered by contest outcomes. Winning a contest substantially increases JH and losing a contest decreases JH. The post-contest change in JH may mediate a winner-loser effect, as individuals tend to keep a similar rank when paired with new rivals. Interestingly, the length of JH up- or down-regulation after contests was variable. Some winners maintained elevated JH for weeks after winning a fight, while others did not. The authors hypothesize that maintaining high JH is costly and some males can withstand this cost better than others. This work is particularly noteworthy because JH was measured multiple times in the same individual. JH measurement is typically fatal, so previous studies have not been able to quantify individual variation in hormone responsiveness.

Subsequent research in *Polistes dominula* provides additional evidence that the outcome of aggressive contests influences JH titers (Tibbetts et al., 2018). In *Polistes*, queens often nest in cooperative groups. When queens meet, they initially compete over dominance rank before forming stable linear dominance hierarchies. In this experiment, three nest-founding queens were randomly assigned to groups and aggression was measured. Three hours after meeting, wasps were bled for analysis of JH titer. The wasp who attained the lowest rank had less JH than dominants or solitary controls, indicating that losing a contest causes rapid JH reduction in low-ranking subordinates. Subsequent experimental manipulation of JH titer illustrates that JH decline in subordinates may facilitate the formation of stable cooperative associations. There is typically a small amount of ritualized aggression between dominants and subordinates after hierarchy formation. However, when subordinate JH titers are experimentally increased, subordinates receive significantly more aggression than control subordinates or subordinates from groups where the dominant's JH was increased. These results suggest that dominants aggressively punish subordinates who maintain high JH. Low-ranked subordinates may rapidly downregulate reproductive hormones to reduce costly social interactions with dominants.

Ornaments influence hormones

Considering the strong evidence that (1) ornaments influence social and sexual behavior and (2) behavior influences hormone titers, surprisingly little empirical work has directly tested how ornaments influence hormones. The first evidence that ornaments influence androgens comes from the work of Safran et al. (2008) using a sexually selected plumage ornament in male barn swallows. Experimentally enhancing male ornaments increased male androgen titers. The mechanism that produced the androgen change was not tested, but they hypothesized that altering the signal changed males' performance of androgen-associated behaviors like aggression or sexual behavior. In a follow-up study, the authors altered the same plumage ornament in females and found that signal alteration influenced both testosterone titer and oxidative damage (Vitousek et al., 2013). Less is known about the function of the plumage ornament in females, but the consistency across sexes suggests that signal–hormone links may be widespread.

One study in *P. dominula* wasps tested how ornaments, hormone titers, and behavior interact during animal contests (Tibbetts et al., 2016). *P. dominula* have black facial patterns that signal fighting ability. Strong wasps have different facial patterns than weak wasps and facial patterns are used to minimize the costs of conflict during contests with unfamiliar rivals (Tibbetts, 2013). The goal of the study was to test how inaccurate signals of fighting ability alter contest behavior and JH titers. The facial patterns of some *P. dominula* were experimentally altered so half the wasps had inaccurate signals of fighting ability, while the other half had accurate signals. Then, the wasps were observed as they interacted with rivals for two hours before being bled for JH titer analysis. The results were striking. Wasps with inaccurate signals had lower JH titers at the end of the contests than wasps with accurate signals. The JH decrease in inaccurate signalers likely occurred because inaccurate signalers receive more aggression from rivals than accurate signalers and receiving intense aggression decreased JH. Wasps that received the most aggression had the lowest JH titers at the end of the contests, but there was variation in how wasps responded to aggression. Wasps with facial patterns that signaled strength were less likely to downregulate their JH titer in response to receiving aggression than wasps who signaled weakness.

This experiment illustrates that interactions between ornaments, hormones, and behavior could play a key role in the evolution of honest communication. Wasps with dishonest signals are aggressively punished, and the punishment suppresses JH titers. JH suppression may be costly, even if JH is only suppressed for a short time. Wasps experience a brief period of intense competition during nest foundation, and competitive ability during this period has a huge effect on lifetime reproductive success (Jandt et al., 2014). As a result, even short-term down-regulation of JH during the spring will have persistent fitness costs via effects on competitiveness. Therefore, interactions between the behavioral and physiological consequences of dishonesty could play an important role in maintaining honest communication over evolutionary time (Tibbetts, 2014).

There is much room for additional research on the relationships between hormones and ornaments. Thus far, there is evidence that ornaments influence hormone titers and hormone titers influence ornament development. Therefore, hormone-ornament relationships are flexible and bidirectional rather than static and unidirectional. Dynamic relationships among ornaments, behavior, and physiology may be an important, but overlooked factor in the evolution of honest communication (Tibbetts, 2014). These results also add to a growing body of evidence showing that hormone responsiveness is complex and context-dependent. Factors like taxonomic group, social behavior, ornaments, and experimental context how and when hormones respond to social interactions.

Longer-term response to rank, physiological suppression

Vertebrates

In cooperative breeders, position in a rank hierarchy has long-term effects on hormones. Most commonly, subordinates downregulate one or more hormones involved in the reproductive endocrine axis relative to dominants, termed ‘physiological suppression.’ Physiological suppression of subordinates occurs in a broad range of cooperatively breeding taxa, including fishes, mammals, birds and insects (Young, 2009).

Insects

Previous work on physiological suppression in insects focused on worker reproductive suppression in social insects. Suppression of eusocial workers is sometimes treated as distinct from suppression of subordinate cooperative breeders because workers have fewer reproductive options than subordinates. In some social insects, workers are sterile. In other social insects, the timing of worker production means workers may be unable to mate or start a successful nest. Despite these differences, there are striking parallels between social insect workers and subordinate cooperative breeders. For example, workers in many social insects can upregulate their reproductive capacity if the queen disappears or is unable to reproduce (Liebig et al., 2005; Tibbetts & Banan, 2010; Kelstrup et al., 2014b). In some social insects, workers that upregulate their reproductive capacity when the queen is present experience social punishment, including egg-eating and aggression (Smith et al., 2009). There is much opportunity for future work on the hormonal mechanisms that underlie physiological suppression in insects.

Thus far, the physiology of reproductive suppression has only been examined in a few species. In *Polistes* paper wasp and *Bombus* bees, JH mediates fertility: nonreproductive workers have lower JH titers than queens (Bloch et al., 2000b; Giray et al., 2005). In the absence of the queen, a worker will take over as the new reproductive and will increase her JH titer accordingly (Larrere & Couillaud, 1993; Tibbetts & Banan, 2010; Kelstrup et al., 2014b). JH also mediates reproductive suppression in cooperative groups of *Polistes* nest-founding queens (Tibbetts et al., 2018). However, there is no difference in JH titer of queens and workers in *Polybia micas* (Kelstrup et al., 2014a), suggesting that other physiological mechanisms mediate worker reproductive suppression. For example, biogenic amines and ecdysteroids may mediate physiological suppression in some social insects (Shimoji et al., 2017). Overall, current data indicate that the physiology of reproductive suppression in primitively eusocial taxa has key similarities to that observed in cooperatively breeding vertebrates.

One major challenge associated with studying the mechanisms that underlie reproductive suppression in insects is that the physiological mechanisms that mediate fertility are extremely variable. JH influences fertility in many social insects, but JH has been decoupled from ovarian development in other social insects. In highly social bees, JH does not influence fertility (Robinson & Vargo, 1997; Corona et al., 2007). In some social ants, high JH reduces queen fertility (Pamminger et al., 2016). In addition, there is variation in endocrine responsiveness within social insects such that the same concentration of JH may have different effects on fertility. Within *Polistes* paper wasps, the effect of JH on fertility has a positive relationship with individual fat content (Tibbetts et al., 2011). As a result, the same hormone titers may have different physiological effects on queens and workers. As the mechanisms that underlie social insect fertility are quite diverse, the mechanisms of reproductive suppression are also likely to vary across taxa.

Although the variation in JH action across social insects offers experimental challenges, it also offers opportunities for understanding how and why endocrine systems evolve.

Future directions; It's just the beginning

The challenge hypothesis provides a framework for investigating how social conflict drives physiological changes in animals, a line of inquiry that unites behavioral ecology, evolutionary biology, and endocrinology. Compared to vertebrates, research investigating the link between hormones and agonistic behavior in insects is still at its early stage. Less than 30 insect species have been studied in this context and most effort has focused on only 3 orders: Hymenoptera (mainly Vespidae), Blattodea and Coleoptera (**Table 5.1**). These fragmented data give us a glimpse of the relationships between hormones and agonistic behavior in insects. Insects are an important taxonomic group with a great diversity in ecology, life-history traits, hormone actions, mating systems, and sociality. As a result, insect research will broaden our understanding of the factors driving the evolution of social endocrinology and test the functional convergence of hormones with vertebrates.

Key future research directions:

1. Assess intra-individual variation in JH titers by using new methods to measure JH titers multiple times in the same individual. The comparison of an individual's JH levels before and after a social intrusion will provide insight into whether hormone levels are the cause or consequence the challenge outcome. More detailed measurement of intra-individual variation in hormones is essential for a better understanding of behavioral endocrinology in insects.
2. Test whether insects respond to an aggressive challenge in ways beyond altering circulating hormone levels. For example, do individuals alter local production of hormones in specific areas of the brain, the number and distribution of hormone receptors, or hormone transport or degradation?
3. A major focus of vertebrate research on the challenge hypothesis has been testing the links between androgen responsiveness, parental investment, and mating system. Thus far, these relationships remain largely untested in insects. In particular, do JH-titers influence parental investment? Does mating system and parental investment influence hormone responsiveness in insects? This question is especially interesting in eusocial insects because the individuals providing offspring care may not be the parents.
4. The Challenge Hypothesis was initially developed to investigate social modulation of androgen titers during competition over reproduction. It did not consider eusocial species with reproductive division of labor, in which reproduction, brood care and defense are often done by different individuals (or at different life stages). Nevertheless, as reviewed above, eusocial insects have some intriguing parallels with vertebrates. Future research can extend the challenge hypothesis framework to fully incorporate eusocial taxa. For example, we currently lack data on how hormone function, titers, and responsiveness differ across castes or behavioral roles.

5. Comparative work with arachnids and crustaceans would aid understanding of the evolution of hormone structure and function as these clades have hormones with similar structure to JH.
6. Finally, additional research targeting diverse species and social contexts is required to facilitate interspecific comparisons and allow the establishment of general patterns of JH responsiveness in insects.
7. Finally, a central goal of future research should be gathering additional information about JH function and JH responsiveness across species and social contexts. Comparative work across diverse insect taxa will allow us to identify general patterns of hormone responsiveness (Hirschenhauser & Oliveira, 2006).

Acknowledgements

This material is based in part upon work supported by the National Science Foundation under grant number IOS-1557564.

Partie III

Le rôle des hormones

Chapitre 6 : Rôle de l'Hormone Juvénile

La revue de la littérature nous a permis de constater que chez les hyménoptères, le rôle de la JH dans la régulation de la reproduction et des comportements durant les conflits n'a été étudié que chez des espèces eusociales. Puisqu'*E. vuilleti* est un hyménoptère non-social, explorer comment la JH affecte la reproduction et les combats entre femelles pour accéder à un hôte peut nous permettre de comprendre comment les actions de cette hormone ont évolué au sein de cet ordre avec différents degrés de socialité.

Dans une première expérience, nous avons étudié dans quelle mesure une augmentation artificielle des taux de JH affectait le statut reproducteur des femelles parasitoïdes. Comme chez de nombreux insectes, nous avons montré que la JH a un effet gonadotrope chez *E. vuilleti*, puisqu'une injection de JHIII augmente la charge en oeufs des femelles après 24h.

Dans une seconde expérience, nous avons testé l'effet d'injection de JHIII sur l'agressivité des femelles et l'issue des conflits pour l'accès à un hôte. L'agressivité des femelles a été affectée par l'interaction entre la charge en oeufs et le traitement : les femelles étaient plus agressives lorsqu'elles avaient un plus grand nombre d'oeufs matures, et cet effet était plus important lorsqu'elles étaient injectées avec de la JH. Cependant, seule la charge en oeufs a influencé l'issue des combats : les femelles avec plus d'oeufs prêts à être pondus gagnaient plus fréquemment les combats.

Notre étude manipulative démontre ainsi que la JH est impliquée aussi bien dans la reproduction que dans la modulation des comportements chez un hyménoptère non-social, ce qui suggère qu'au cours de l'évolution, ces deux rôles de la JH ont été découplés entre les castes chez les espèces d'hyménoptères hautement eusociales (« split-function hypothesis »).

“These chemical messengers [...] or ‘hormones’ (from ὁρμάω, I excite or arouse), as we might call them”

Ernest Starling, physiologiste

Chapitre 6

Rôle de l'Hormone Juvénile

Juvenile hormone manipulation affects female reproductive status and aggressiveness in a non-social parasitoid wasp

Mathiron Anthony G.E., Ryan L. Earley & Goubault Marlène. 2019. General and Comparative Endocrinology, 274, 80-86.

Summary

In vertebrates, titers of androgens such as testosterone are known to upregulate aggressive behaviors associated with reproduction. In insects, juvenile hormone (JH) is a good candidate for studying the flexibility of insect endocrine responses because it has important effects on both reproductive processes and behavior. JH has a gonadotropic effect across a broad range of insect species, increasing ovarian development in females, and may have a role in the regulation of aggressive behavior during competition. In Hymenoptera, the functions of JH have been studied in facultatively eusocial species such as polistine wasps, bumblebees, ants and bees. Surprisingly, no work has yet focused on the relationship between JH, reproduction and aggressiveness in a nonsocial Hymenoptera, although it may help to understand how JH actions have evolved across taxa with different degrees of sociality. Here, we explored how JH treatment influenced: i) female reproductive status, and ii) the intensity (aggressiveness) and resolution of conflict, in *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera: Eupelmidae), a solitary ectoparasitoid wasp in which females fight over hosts. We demonstrated that intra-abdominal injections of JH increased the number of mature eggs in females after 24 h. In addition, the number of aggressive behaviors displayed by females was affected by the interaction between JH treatment and the number of mature eggs in their abdomen, but mature egg load alone predicted the outcome of staged contests. Wasps were more aggressive when they had more ready-to-lay eggs, with this effect being stronger when females were injected with JH. Moreover, females won more frequently when they had higher mature egg load. Our results highlight how JH affects egg maturation and aggressive behaviors in *Eupelmus vuilleti* females. To our knowledge, this is the first study showing that hormone manipulation can modulate females' reproduction status and behavior during intraspecific competition over hosts in a non-social hymenopteran parasitoid.

Key words: Juvenile hormone, reproductive maturation, aggressive behaviors, conflict resolution.

Introduction

As gaining access to resources brings fitness benefits to individuals, both vertebrate and invertebrate animals commonly exhibit aggressive behaviors during conflicts over such resources (Collias, 1944; Breed & Bell, 1983; Hardy & Briffa, 2013). For example, in parasitoid insects, hosts represent an indivisible resource over which females compete to lay their eggs, and physical interactions between females for host access have been observed in various parasitoid species (Hughes et al., 1994; Petersen & Hardy, 1996; Field & Calbert, 1999; Goubault et al., 2007; Mohamad et al., 2010; Mathiron et al., 2018). In many animal taxa, aggressive conflicts have also been observed between individuals for sexual partners (West-Eberhard, 1979; Schwagmeyer & Wootner, 1985; Simmons, 1986), food (Barton, 1993; Vogel, 2005), territories (Rowland, 1989; Festa-Bianchet et al., 1990), and dominance status (Chase, 1974). However, being constantly aggressive can be costly, as potential physical injuries can lead to death (Palombit, 1993; Innocent et al., 2011), and decreased vigilance can increase predation risk (Jakobsson et al., 1995; Díaz-Uriarte, 1999). Animals should therefore evaluate the costs and benefits of exhibiting agonistic behaviors and then behave appropriately (Maynard-Smith & Price, 1973). Endocrine regulation is one important way that animals can match behavioral and physiological responses to their current environment (Tibbetts & Crocker, 2014).

In vertebrates, testosterone is generally involved in the modulation of aggressive behaviors during conflicts associated with reproduction, such as the establishment and maintenance of breeding territories, mate access, and offspring defense (Wingfield, 1984). For example, Salvador et al. (1996) showed that testosterone supplementation in large males of the territorial lizard *Psammodromus algirus* increased the number of chasing behaviors toward conspecific intruders. Moreover, during mate choice, female zebra finches treated with testosterone were more aggressive toward conspecific females than control individuals (Adkins-Regan, 1999). Whilst well-described in vertebrates, the endocrine basis of behavior is still relatively unknown in insects (Zera, 2007; Tibbetts & Crocker, 2014). Because vertebrates and insects have similar behaviors but different endocrine systems (Nijhout, 1994; Adkins-Regan, 2005), exploring how hormones modulate insects behaviors can therefore provide insight into the evolution of endocrine regulation of behavior (Emlen & Nijhout, 2000).

In insects, juvenile hormone (JH) is a good candidate for studying the flexibility of endocrine responses to intraspecific conflict because it has important effects on both reproductive processes and behavior. Together with nutrition (see the review of Wheeler, 1996), JH plays an important and diverse role in reproduction in many adult insect species by regulating vitellogenesis in the fat body and vitellogenin uptake by the ovaries (reviewed by Tobe & Stay, 1985; Nijhout, 1994; Robinson & Vargo, 1997; Hartfelder, 2000). In Hymenoptera, JH is involved in the regulation of ovarian development in the facultatively eusocial sweat bee *Megalopta genalis* (Smith et al., 2013) and in primitively social species like polistine wasps (Barth et al., 1975), halictine bees (Bell, 1973) and bumblebees (Bloch et al., 2000a; Amsalem et al., 2014). However, in the highly social honeybee *Apis mellifera*, JH is apparently involved in the regulation of division of labor but has no clear role in the regulation of reproduction (reviewed in Robinson, 1992; Robinson & Vargo, 1997). In many eusocial hymenopterans, JH is also associated with displays of behaviors often judged to be aggressive (Tibbetts & Crocker, 2014). For example, in the epiponine wasp *Polybia micans*, JH may fuel aggressive behaviors of single queens heading a colony (Kelstrup et al. 2014a). Similar observations have been made in paper wasps, in which high JH titers are associated with dominance behaviors (Röseler et al., 1980, 1984; Giray et al., 2005; Tibbetts and Huang, 2010; Tibbetts et al., 2013; Kelstrup et al., 2017; but see Kelstrup et al., 2015). In honeybees, JH titers

are higher in more aggressive workers and JH treatments cause honeybees to exhibit more frequent guarding behaviors (Sasagawa et al., 1989; Pearce et al., 2001). However, JH has no effect on aggression in the swarm-founding epiponine wasp *Synoecca surinama* (Kelstrup et al., 2014b) and may even be negatively correlated with aggression in the queenless ponerine ant, *Streblognathus peetersi* (Brent et al., 2006). Surprisingly, no work has yet focused on the relationship between JH, reproduction, and aggressiveness in strict nonsocial Hymenoptera species, although it may help to understand how H actions have evolved across insect taxa with different degrees of sociality.

In the present study, we investigated how JH treatment influences: i) female reproductive status, and ii) aggressive behaviors exhibited during contests over host access as well as the outcome of such contests, using *Eupelmus vuilleti* Crawford (Hymenoptera: Eupelmidae). *Eupelmus vuilleti* is a solitary ectoparasitoid (i.e. only one juvenile can develop per host, with supernumerary offspring being killed during larval competition). Females parasitize and feed upon larvae and pupae of *Callosobruchus maculatus* (Fab) (Coleoptera: Bruchidae), which infest cowpea seeds, *Vigna unguiculata* (L.) Walp (Fabaceae; Terrasse & Rojas-Rousse, 1986). When several females are simultaneously present on a host patch, they tend to protect the host that they exploit by displaying aggressive behaviors towards conspecific competitors (Mohamad et al., 2010; Mathiron et al., 2018). Previous studies have investigated the role of different factors (e.g., egg load, host density and host quality) on aggressiveness and contest outcomes in *E. vuilleti* (Mohamad et al., 2010, 2012, 2013; Mathiron et al., 2018), but nothing is known about how hormones modulate aggressiveness during competition for host access.

While measuring variation in hormone titers is an important first step to understand the endocrine basis of phenotypic plasticity (Zera, 2007), one method that allows for understanding individual responses to hormonal change is to administer a similar amount of hormone to numerous individuals and, subsequently, to test how hormone manipulations affect the phenotype (Tibbetts & Izzo, 2009). As such, manipulation of JH is one of the most common methods employed to understand its mode of action and functions in insects (Sláma, 1971; Ramaseshadri et al., 2012). A first experiment was therefore designed to determine if JH treatment affected female reproductive status. As for many other insect species, we expected JH to have a gonadotropic effect in females, i.e. that wasps treated with JH would have more ready-to-lay eggs than control females (i.e. treated with vehicle). In a second experiment, we studied whether aggressiveness and resolution of conflicts between females were influenced by a JH treatment. We expected that individuals treated with JH would display more aggressive behaviors and would ultimately be more likely to win contests for hosts relative to control females.

Material and Methods

Laboratory breeding

In 2007, *E. vuilleti* emerged from cowpea seeds collected in Togo (West Africa) and infested by the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. Parasitoids were then bred in the laboratory (IRBI, University of Tours, France) on larval and pupal stages of *C. maculatus*, according to the methodology described by Jaloux et al. (2004). All experimental procedures were carried out in a climate room at 30°C and 12:12 h light: dark. Cowpea seeds were dissected to collect hosts for *E. vuilleti*, which were then individually placed in a standard transparent gelatin capsule (length: 2 cm, diameter: 0.6 cm). This system mimics a cowpea seed without significantly altering the oviposition behavior of females, and facilitates observation of the number of eggs laid by females (Gauthier & Monge, 1999). Previous studies have shown that after

a period of acclimation, parasitoid females behave in the same manner to the presence of hosts inside seeds and capsules (Gauthier & Monge, 1999; Jaloux et al., 2004), although the number of eggs laid on hosts is slightly lower inside capsules (Damiens et al., 2001). Females used in the following experiments emerged in isolation, which prevented them from having any previous experience of oviposition or competition. We placed them individually in petri dishes (diameter: 8.5 cm; height: 2.7 cm), and provided cotton soaked in water and one pupa of *C. maculatus* located in gelatin capsule that was renewed each day preceding the experiments. *E. vuilleti* is a synovigenic parasitoid species: emerging females possess a few mature eggs and they mature additional eggs throughout their adult life. Oviposition activity increases over time and peaks three days after emergence (Jaloux et al., 2004). To stimulate oogenesis (Terrasse & Rojas-Rousse, 1986), we also gave one male to females during the first day.

Experiment 1: effect of JH on females' reproductive status

To investigate the influence of JH treatment on female reproductive status, two-day old wasps were randomly assigned to one of the five following treatments: they received either 0.04 μL of acetone ($N = 36$) or 0.04 μL of JHIII (purchased from Sigma-Aldrich, Inc.) dissolved in acetone at four different concentrations (8, 16, 32 or 64 $\text{pg}/\mu\text{L}$; $N = 35$, $N = 39$, $N = 39$, $N = 37$, respectively). The final volume was established based on preliminary tests showing that mean haemolymph volume in *E. vuilleti* females is 0.175 μL (but this volume may vary depending on body mass, physiological state or environmental conditions; Borde et al., unpublished data). Immediately after being immobilized on a petri dish that was cooled by ice, wasps were injected into the abdomen through the intersegmental membrane using the nanoliter injector Nanoject III (Drummond Scientific Company). Females were then individually placed in a petri dish and were frozen at -20°C either 4 h ($N = 20$ for injections of 0, 8, 16, 32 $\text{pg}/\mu\text{L}$ and $N = 18$ for injection of 64 $\text{pg}/\mu\text{L}$) or 24 h ($N = 16$ for injection of 0 $\text{pg}/\mu\text{L}$, $N = 15$ for injection of 8 $\text{pg}/\mu\text{L}$, and $N = 19$ for injections of 16, 32 and 64 $\text{pg}/\mu\text{L}$) after injection. Females were deprived of hosts so that no mature eggs were laid during this period. Finally, all females were weighed using an electronic balance (Ohaus Discovery® model, accuracy: 0.01 mg) and then dissected to count mature (i.e. ready-to-lay) oocytes in their abdomen.

Experiment 2: effect of JH on females' aggressiveness and contests outcome

To investigate the influence of JH manipulation on female aggressive behavior, three-days old wasps were randomly assigned to two different injection treatments: females injected with either 0.04 μL of JHIII diluted in acetone (concentration = 32 $\text{pg}/\mu\text{L}$) or 0.04 μL of acetone alone. Wasps were marked on the dorsal part of their thorax with a dot of bright yellow or bright red acrylic paint the day before behavioral observations to allow individual identification during contests. Paint color did not affect contest outcomes (wasps painted red won 17 of 25 contests; binomial test: $P = 0.11$). Females were deprived of hosts for at least 2 h before the start of the contest so that they were more ready to oviposit. At the beginning of the observation, two wasps were simultaneously introduced into an apparatus consisting of a plastic block made of three chambers linked by a narrow channel (Petersen & Hardy, 1996; Fig. 6.I).

All contests were run between one control female (i.e., injected with acetone only) and one test female (i.e., injected with JHIII), challenging for a 4th instar larva of *C. maculatus* located in gelatin capsule and previously placed in the central chamber of the contest arena. Mathiron et al. (2018) showed that females with previous oviposition experience on pupae were more motivated to gain access to a 4th instar larva.

Contests occurred between females of the same age (3 days old), marked with different colors and visually matched for size; post-experiment data analysis confirmed that contestants of the same dyad did not differ significantly in body mass (Wilcoxon signed-ranks test: $T = 147.5$, $N = 25$, $P = 0.7$). Both females could freely move throughout the entire contest arena. Observations lasted 1 h or were stopped when: i) one female pushed her opponent out of the central chamber, ii) one female exited the central chamber for at least 2 min, or iii) neither female touched the host nor displayed aggressive interactions for at least 2 min.

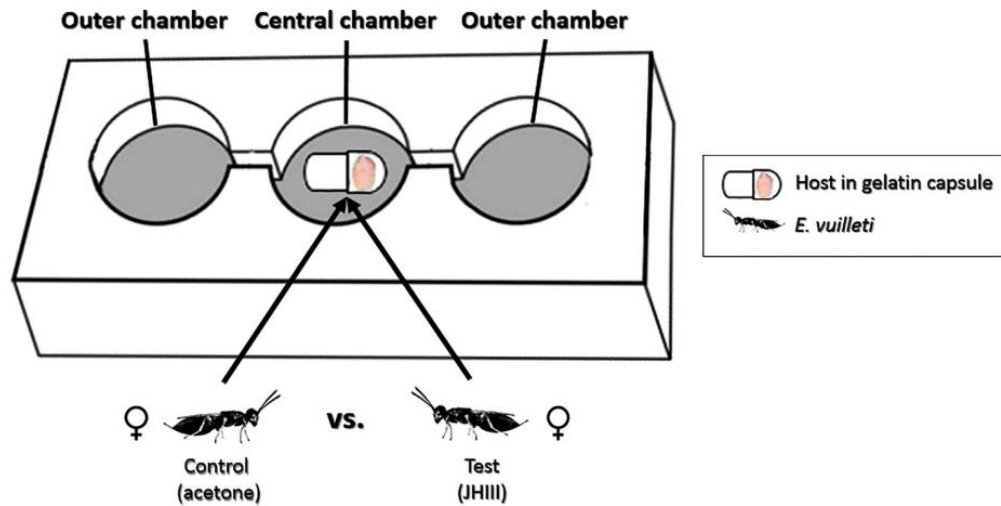


Figure 6.I. Experimental apparatus (adapted from Peterson & Hardy, 1996). Three chambers (diameter = 1.8 cm, depth = 0.6 cm) linked by a narrow channel (width = 0.1 cm) were made in a plastic block, decked with Plexiglas. At the start of experiments, two *E. vuilleti* females (one control and one test female) were simultaneously introduced into the central chamber already containing a 4th instar larva of *C. maculatus* within a gelatin capsule mimicking a seed. Wasp behavior was observed from above the contest arena.

During all tests, we recorded oviposition and aggressive behaviors displayed by each female. Upon detection of a conspecific (females raised their antennae in the direction of their opponent), females frequently interrupted their behavioral oviposition sequence (Mohamad et al., 2010). They either simply kick their opponent with their legs without taking their ovipositor out of the capsule (defensive behavior) or can escalate to a full attack, in which case one female generally chases her opponent away from the capsule, hits her with her head or mounts her (Mathiron et al., 2018). Chasing, hitting and mounting can lead to the loser leaving the central chamber of the arena (8/25 loser females left the central chamber after an opponent attack during this experiment). Only these behaviors, collectively termed as 'attacks', were therefore considered in the rest of the study. When both females of a dyad stayed in the central chamber during the whole time of observation, the winning female was determined as the one exhibiting oviposition behaviors.

Wasps were immediately frozen at -20°C after the experiments, weighed using an electronic balance (Ohaus Discovery® model, accuracy: 0.01 mg), and dissected to count the number of mature and nonmature eggs in their abdomen. Finally, after each contest, we counted the number of eggs laid on the host by the winning female to determine their mature egg load before the contests (i.e., initial mature egg load).

Statistical analysis

We performed data analyses with the software Rstudio (1.0.143 version – © 2009–2016 RStudio, Inc.), using $\alpha = 0.05$. Our general approach was to use, when possible, parametric analyses in which the assumed distribution of residuals was matched to the data rather than transforming data to fit standard assumptions (Wilson & Hardy, 2002; Briffa et al., 2013). However, we used non-parametric tests when parametric conditions were not verified.

Experiment 1: We first investigated whether the mature egg load of females differed significantly between JHIII treatments, 4 h after injection, by performing a general linear model (GLM) assuming a Poisson distribution of errors. We then ran a linear model (LM) and a polynomial linear model (PLM) to explore the effect of JHIII treatments on the number of mature eggs 24 h after injection, and we compared the linear and polynomial models to determine which one provided a better fit.

Experiment 2: We first verified that initial mature egg load did not differ between JHIII females (mean egg load $\pm$ S.E.: 6.2 ± 0.7) and control females (mean egg load $\pm$ S.E.: 5 ± 0.5 ; Student test: $t_{25} = -1.41$, $P = 0.16$). We then performed a generalized linear mixed model (GLMM) with a Poisson error distribution to explore the influence of contestants' initial mature egg load and injection treatment on the number of attacks (calculated as the sum of chasing, hitting, and mounting behaviors) displayed by females, with contest identity as a random factor. Lastly, we conducted a GLMM assuming a binomial error distribution to explore the influence of initial mature egg load of females and injection treatments on contest outcomes, with contest identity as a random factor. To run this analysis, we defined contest outcome as a binary response: 0 = the female lost and 1 = the female won.

Results

Experiment 1: effect of JH on female reproductive status

The number of mature eggs in females did not vary across treatments 4 h after injections (GLM: $\chi^2 = 0.006$, $df = 1$, $P = 0.94$; **Fig. 6.2a**). However, 24 h after injections, mature egg load was influenced significantly by treatment (LM: $F_{1,86} = 4.05$, $P = 0.047$, $R^2 = 0.335$). Moreover, we found that the polynomial model fitted better than the linear model, with a dose-dependent effect of JHIII injection on egg maturation reaching a plateau at $64 \text{ pg}/\mu\text{L}$ (PLM: $F_{1,85} = 4.05$, $P = 0.047$, $R^2 = 0.365$; **Fig. 6.2b**).

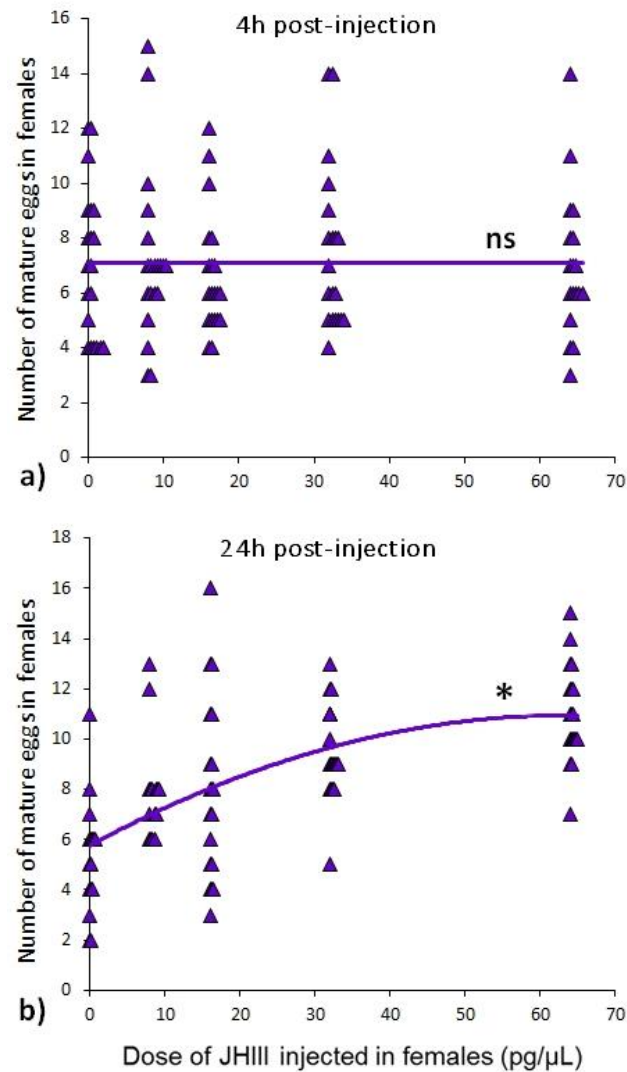


Figure 6.2. Number of mature eggs of females injected with different doses of JHIII. a) 4 h after injections, b) 24 h after injections. ns: non-significant; *: $P < 0.05$. Data points have been horizontally displaced from their binary positions to show the numbers of observations.

Experiment 2: effect of JH on female aggressiveness and contests outcome

The number of attacks displayed by females was influenced significantly by the interaction between female egg load and injection treatment (**Table 6.1**). Wasps attacked significantly more during a contest when they had more ready-to-lay eggs, and this effect was stronger when females were injected with JHIII compared to control females injected with acetone alone (**Table 6.1**, **Fig. 6.3**). Effect of female egg load $\times$ injection treatment interaction was still significant when removing data from the contest with a JHIII female displaying 22 attacks and her control opponent displaying 2 attacks (GLMM: $\chi^2 = 4.87$, $df = 1$, $P = 0.03$).

Table 6.I. Effect of initial egg load difference and injection on female agonistic behaviors.

Factors affecting female aggressiveness	d.f.	χ^2	<i>P</i>
Egg load	1	4.81	< 0.05
Injection	1	20.34	< 0.001
Egg load x Injection	1	7.09	0.008

P-values of significant explanatory variables are shown in bold font.

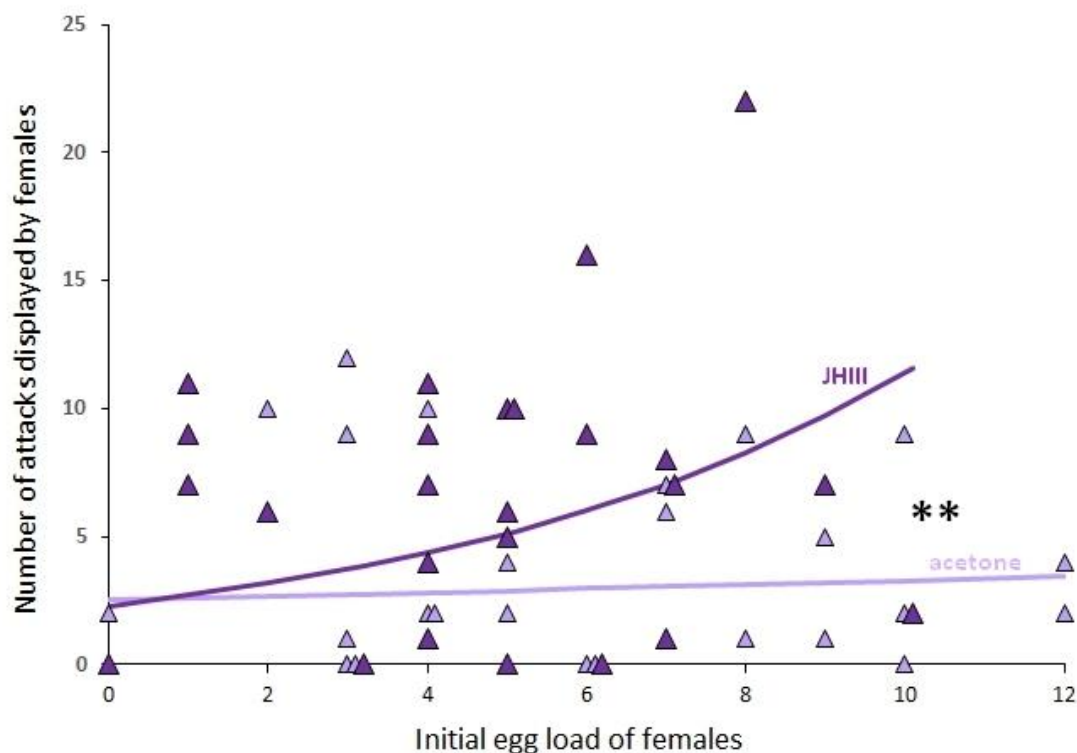


Figure 6.3. a) Number of attacks displayed by females treated with acetone alone (light data points, light gray line; N = 25) or with JHIII (dark data points, dark curve; N = 25) when fighting for a 4th instar larva of *C. maculatus*. **: $P < 0.01$. Data points have been horizontally displaced from their binary positions to show the numbers of observations. Statistical analyses showed that effect of ‘Egg load × Injection’ interaction was still significant when removing data from the contest with a JHIII female displaying 22 attacks and her control opponent displaying 2 attacks (GLMM: $\chi^2 = 4.87$, $df = 1$, $P = 0.03$).

The probability of a female winning a contest was not influenced significantly by either the interaction between her initial mature egg load and injection, or the effect of injection alone (Table 6.2). However, females had higher probabilities of winning contest when they had more ready-to-lay-eggs before contests (Table 6.2, Fig. 6.4).

Table 6.2. Effect of initial egg load difference and injection on the winning probability of females.

Factors affecting contest outcomes	d.f.	χ^2	<i>P</i>
Egg load	1	4.62	0.03
Injection	1	0.54	0.46
Egg load x Injection	1	0.22	0.64

P-values of significant explanatory variables are shown in bold font.

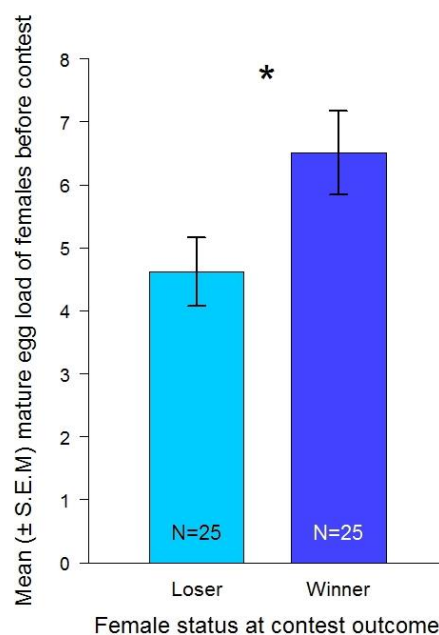


Figure 6.4. Mean ($\pm$ S.E.M) number of mature eggs in females before the contest (i.e. initial egg load) and their winning status at contest outcome. *: $P < 0.05$. Sample sizes are shown as text within each histogram bar.

Discussion

The purpose of our study was to test the effect of JH manipulation on female reproductive status, aggressiveness and conflict resolution in the solitary ectoparasitoid *E. vuilleti*. By measuring how JHIII injections affect oocyte maturation, we showed that JHIII did not influence mature egg load after 4 h, but had a dose-dependent gonadotropic effect in females 24 h post-injection. Moreover, JHIII injections and egg load interacted to affect female aggressiveness during competition for host access.

Effect of JH on females' reproductive status

In our first experiment, the reproductive status of the wasps varied after 24 h according to the amount of JHIII injected in females: wasps injected with JHIII had more ready-to-lay eggs than those injected

only with acetone. This result therefore suggests that JH has a gonadotropic effect in *E. vuilleti* females, and was expected given that JH plays an important and diverse role in adult reproduction of many insect species by regulating vitellogenesis in the fat body and vitellogenin uptake by the ovaries (reviewed by Tobe & Stay, 1985; Nijhout, 1994; Robinson & Vargo, 1997; Hartfelder, 2000). In Hymenoptera, JH is involved in the regulation of ovarian development in the facultatively eusocial sweat bee *Megalopta genalis* (Smith et al., 2013), primitively social polistine wasps (Barth et al., 1975), halictine bees (Bell, 1973) and bumblebees (Bloch et al. 2000a), but not in the highly social honeybee *Apis mellifera* (reviewed in Robinson, 1992; Robinson & Vargo, 1997). Because egg maturation was affected by JH in a dose-dependent way, we can reject the hypothesis that the physiological response to injection was an artefact related to activation of another signaling pathway such as the stress response. Finally, we found no difference in mature egg load between control and JHIII treated females 4 h after injections. This is consistent with what we found in the second experiment, where contestants had the same number of mature eggs before contests, whether they were injected with JHIII or with vehicle alone. Our results therefore suggest that the egg maturation response to JH injection may happen only after 4 h post-injection. Decoupling the effect of ovarian maturation and JH treatment on aggressive interactions is sometimes difficult (see Barth et al., 1975 for an example). Observing *E. vuilleti* females fight over hosts between 1 h and 4 h post-injection permitted us to disentangle the effects of JHIII and mature egg load on aggressiveness and contest outcomes.

Effect of JH and subjective resource value on female competition

In our second experiment, we investigated the role of JH injection and mature egg load on female aggressiveness and contest outcome. Our results support the idea that reproductive state influences behavioral decisions during fights (Neat et al., 1998; Stokkebo & Hardy, 2000; Arnott & Elwood, 2008). As previously demonstrated in *E. vuilleti* (Mohamad et al., 2010; Mathiron et al., 2018), we found that more gravid females (i.e., females with more mature eggs) displayed more attacks and had a higher probability of winning contests. This is also consistent with game theoretical predictions that contest outcome is influenced by differences in the value that opponents place in the resource ('Subjective Resource Value', SRV; Maynard-Smith & Parker, 1976; Hammerstein, 1981; Enquist & Leimar, 1987). For instance, parasitoid females with more developed reproductive tissues are predicted to place a greater value on hosts: they are more prepared to oviposit and should therefore be more motivated to fight and have a higher probability of winning contests (Stokkebo & Hardy, 2000; Brown et al., 2006, 2007; Dissanayake et al., 2009). We therefore added evidence that the initial egg load as a component of SRV plays a main role in conflict resolution in *E. vuilleti*.

More interestingly, we found an interaction between JHIII injection and mature egg load on the number of aggressive behaviors displayed by females. We observed that the effect of initial egg load on aggressiveness was more pronounced when contestants were injected with JHIII. We therefore suggest that JHIII promoted female aggressiveness during fights for host access. This agrees with previous studies exploring the role of JH on agonistic behaviors in insects (Tibbetts & Crocker, 2014). Topical application of methoprene (a JH analog) induced strong reactions to confrontation (i.e., aggression/flight behavior) in individuals of *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria* (Wiesel et al., 1996). Scott (2006a) made the same observation in *Nicrophorus orbicollis* and *Nicrophorus tomentosus*: methoprene application significantly increased the number of injuries from aggressive interactions in males and females in the

absence of a resource. Moreover, in the cockroach *Nauphoeta cinerea*, JHIII injections sustain males' aggressive posture during intra-sexual fights (Kou et al., 2008). Here, we highlight that JH treatment upregulated aggressive behaviors associated with reproduction in *E. vuilleti* females, just as testosterone does in vertebrates (Wingfield, 1984). This is an important result because vertebrate and insect hormones have different evolutionary histories and possess different physiological backgrounds, suggesting an evolutionary convergence of endocrine effects across vertebrates and insects (Tibbetts & Crocker, 2014).

Evolution of JH functions across hymenopterans with different degrees of sociality

JH has been observed to play two important roles in life history regulation in hymenopteran societies: gonadotropin and behavioral pacemaker (Robinson & Vargo, 1997). Because regulation of reproduction is generally the main role of JH in adult insects (Nijhout, 1994), it is assumed that this was an ancestral function of this hormone in social hymenoptera. So, how the relationship between JH regulation of reproduction and JH regulation of aggressiveness has evolved across hymenopteran taxa with different degree of sociality remains an open question. Currently, two hypotheses have been advanced: i) the 'novel or single-function hypothesis' (Robinson, 1992; Robinson & Vargo, 1997; Agrahari & Gadagkar, 2003) proposes that the role of JH has changed from an exclusively reproductive function in primitively eusocial species (those lacking morphologically distinct queen and worker castes), to an exclusively behavioral function in highly eusocial societies (those containing morphologically distinct castes), whereas ii) the 'split-function hypothesis' (West-Eberhard, 1996) proposes that JH affects regulation of both reproduction and behavior in ancestral nonsocial species, but that these different effects of JH were then divided between queens and workers in more social species (i.e. regulation of reproductive maturation in egg-laying queens and behavioral pacemaker in workers). Previous studies have lent some support to both hypotheses (Agrahari & Gadagkar, 2003; Giray et al., 2005). To the extent that JH modulates ovarian development and aggressiveness in *E. vuilleti*, a strict non-social hymenopteran, our work supports the split-function hypothesis, but further investigations in non-social hymenopteran species will be essential for comparative studies on the evolution of JH function.

Conclusion

By testing the role of JH on both reproductive status and aggressiveness in female *E. vuilleti*, we have shown for the first time in a nonsocial hymenopteran parasitoid that JH has a gonadotropic effect and promotes aggressive behaviors during contests over hosts. Because JH upregulates aggressive behaviors associated with reproduction, our data support the possibility that JH in insects and testosterone in vertebrates have parallel functions, suggesting evolutionary convergence of endocrine systems.

Acknowledgements

We are grateful to Charlotte Lécureuil and Joël Meunier for their advices and Fabrice Vannier for his technical assistance. We thank Dr. Mark Sheridan and 2 anonymous reviewers for helpful comments on the manuscript.

Partie III

Le rôle des hormones

Chapitre 7 : Rôle des ecdystéroïdes

Bien que la JH soit une bonne candidate, les ESH sont autre une famille d'hormones d'intérêt pour explorer la médiation hormonale du comportement des insectes en situation de compétition intraspécifique directe. Or comme nous l'avons vu dans le chapitre 5, la littérature sur le lien entre le taux d'ESH des individus et leurs stratégies comportementales lors d'un conflit est encore relativement pauvre.

Chez *E. vuilleti*, de précédents travaux ont montré que l'ecdysone est la forme d'ESH majoritairement sécrétée par les femelles actives d'un point de vue reproductif, et qu'un simple contact avec un hôte déclenche une augmentation des taux de cette hormone, corrélée avec la production d'un oeuf dans les 24 heures.

Premièrement, nous avons quantifié les taux naturels d'ESH qui circulent dans les femelles après les combats pour l'accès à un hôte pour établir si un lien existe entre les niveaux de ces hormones et le comportement des parasitoïdes lors de conflit. Les taux d'ESH ne variaient pas avec l'agressivité des parasitoïdes, mais les femelles gagnantes avaient des taux d'ESH plus élevés.

Nous avons ensuite étudié comment une augmentation expérimentale des taux d'ESH affectait le statut reproducteur des femelles parasitoïdes. Nous avons montré qu'une injection d'ecdysone augmentait la charge en oeufs des femelles après 24h. L'ecdysone a donc un effet gonadotrope chez les femelles d'*E. vuilleti*.

Finalement, nous avons testé l'effet d'injection d'ecdysone sur l'agressivité des femelles et l'issue des conflits pour l'accès à un hôte. Les injections n'ont pas affecté l'agressivité des femelles, mais les femelles injectées avec de l'ecdysone avaient une plus grande probabilité de gagner un combat.

Le travail décrit dans ce chapitre est le premier à montrer l'importance des ESH dans l'issue de la compétition intraspécifique pour l'accès à une ressource indivisible chez un hyménoptère non-social. Nos résultats soulignent ainsi que le rôle des ESH dans la médiation du comportement des insectes ne doit pas être négligé.

“No, I’m not on steroids... but thanks for asking”

Même Internet

Chapitre 7

Rôle des ecdystéroïdes

Ecdysteroids affect female reproductive status and outcome of contest over hosts in the parasitoid wasp *Eupelmus vuilleti*

Mathiron Anthony G.E., Dixneuf Charly, Mondy Nathalie, Ryan L. Earley* & Goubault Marlène*. 2019 (submitted)

Note: *authors contributed equally

Summary

In insects, studies on the flexibility of endocrine responses to intraspecific competition have mainly focused on juvenile hormone since it has important effects on both reproductive processes and behavior. However, ecdysteroids are a second insect hormone family that may play a role in modulating aggressive behavior because they act in synergy with juvenile hormone in different physiological processes. In Hymenoptera, the few studies investigating the link between ecdysteroid titers, reproduction and aggressiveness during contest concern solely eusocial species. Here, we explored whether ecdysteroid titers influenced female reproductive status as well as aggressiveness and resolution of conflict in a solitary ectoparasitoid, *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera: Eupelmidae). *Eupelmus vuilleti* females parasitize and feed upon juvenile stages of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), which infest seeds of *Vigna unguiculata* (Fabaceae). When two *E. vuilleti* females are simultaneously present on a patch, they tend to protect the host they exploit by displaying aggressive behaviors towards conspecific competitors. To our knowledge, nothing is known about the role of ecdysteroids in aggressiveness during competition for host access in solitary insects. First, we quantified ecdysteroid titers that naturally circulate in females after a contest: ecdysteroid titers did not correlate with female aggressiveness, but winner wasps had higher titers than losers. Then, we manipulated hormone titers via injections: ecdysteroids favored egg maturation (i.e., gonadotropic effect) and increased female probability to win host access without affecting their aggressiveness. Our study highlighted for the first time that ecdysteroids are involved in the outcome of conflict in a non-social hymenopteran species.

Key words: ecdysteroids, egg maturation, aggressive behaviours, conflict resolution, parasitoid wasp

Introduction

Intraspecific competition for indivisible resources may lead to direct interactions between individuals during contest (Kokko, 2013; Hardy & Briffa, 2013). Winning a contest generally provide profound fitness benefits to animals as they can get access to a piece of food (Barton, 1993; Vogel, 2005), a sexual partner (West-Eberhard, 1979; Schwagmeyer & Wootner, 1985; Simmons, 1986), a dominance status (Chase, 1974) or a territory (Festa-Bianchet et al., 1990). Because aggressiveness may help individuals to obtain such resources, many vertebrates and invertebrates taxa commonly exhibit aggressive behaviors during contests (Collias, 1944; Breed & Bell, 1983; Hardy & Briffa, 2013). For example, in parasitoid insects, females compete to lay their eggs on hosts from which their offspring develop, and aggressive interactions between females for host access have been observed in different parasitoid species (Hughes et al., 1994; Petersen & Hardy, 1996; Field & Calbert, 1999; Goubault et al., 2007; Mohamad et al., 2013; Mathiron et al., 2018). However, costs are also associated with aggressiveness expression, as potential physical injuries can lead to death (Palombit, 1993; Innocent et al., 2011) and predation risk may increase due to decrease in vigilance (Jakobsson et al., 1995; Díaz-Uriarte, 1999). As such, the fitness of individuals depends on their ability to match their behaviour to the current environment.

Thanks to hormones, animals can match their physiology to both biotic and abiotic environment and adjust their behaviour accordingly. Males of many vertebrates thus respond to social challenges from conspecific with a rapid increase in androgen titers such as testosterone (T) which supports and stimulates the expression of aggressive behaviours (reviewed in Moore et al., 2019). In insects, there is growing evidence that hormones may respond to social challenge in ways that parallel androgens in vertebrates (reviewed in Tibbetts & Crocker, 2014; Tibbetts et al., 2019). The majority of studies investigating how hormones mediate behaviours during competitive context have especially focused on juvenile hormone (JH). In adult insects, JH acts as a major gonadotropin, favoring egg maturation in females (Nijhout, 1994; Klowden, 2002) and insects of many species rapidly upregulate JH titers during social competition with rivals (Scott, 2006a; Kelstrup et al., 2014b). In some insects, JH titers are correlated to contest outcomes, with winners having higher JH titers than losers (Kou & Hsu, 2013; Tibbetts et al., 2011, 2018).

Another important class of insect hormones are the ecdysteroid hormones (ESH). Androgens and ESH – mainly ecdysone (E) and 20-hydroxy-ecdysone (20HE) – are both steroid hormones. As for androgens, ESH pass through the cell membrane, then enter the nucleus and bind to nuclear receptor proteins. In the present case, there are a heterodimer composed of the ecdysone receptor (EcR) and the Ultraspiracle (USP; Thomas et al., 1993, Yao et al., 1993). Finally, the receptor–hormone complex binds to specific sequences of the DNA to regulate gene transcription (Bloch et al., 2009; Roy et al., 2018). Despite similarities in their structure and their mode of action, very little is known about the functional parallels between ESH and androgens (Tibbetts et al., 2019).

In adult insects, ESH are produced by the fat body, gonads or epidermis (Festucci-Buselli et al., 2008; Bloch et al., 2009) and they are mainly involved in the control of reproduction and reproductive behaviors (reviewed in Nijhout, 1994; Elekonich & Robinson, 2000; Ringo, 2002). For example in eusocial Hymenoptera, *Bombus terrestris* egg-laying mated queens have higher ESH titers than virgin queens (Bloch et al., 2000b; Geva et al., 2005), and ESH titers are higher in egg-laying workers honeybees than in both nurses and foragers, and even higher in egg-laying queens (Robinson et al., 1991). However, Hartfelder et al. (2002) found no difference between virgin queens and mated egg-laying queens of the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. In addition, ESH have rapid actions on cell-membrane properties

that might be particularly relevant for understanding the role of ESH as behavioral mediators during intraspecific competition context (Bloch et al., 2009), but the few studies measuring links between ESH titers and expression of behaviors such as aggressiveness found inconsistent results. In eusocial hymenopteran species, ESH titers are higher in highly aggressive, high-ranking workers of the queenless ant *Streblognathus peetersi* than in low rankers (Brent et al., 2006). In *Polistes dominula*, overwintered foundresses females injected with 20HE in the pre- and early-nesting phases were more likely to become dominant (i.e., displaying the highest number of aggressive behaviors). In contrast, 20HE titers in the haemolymph are very low and are not associated with dominance rank of females in the late pre-emergent stage in the same species, as well as in the South African species *Polistes smithii* (Kelstrup et al., 2015).

Here, we explored how ESH mediate female reproductive status and aggressive behaviors during contest over host access as well as the outcome of such contests in the parasitoid wasp *E. vuilleti* Crawford (Hymenoptera: Eupelmidae). *Eupelmus vuilleti* is a solitary ectoparasitoid (i.e. only one offspring can develop per host, with supernumerary juveniles being killed through larval competition; Fisher, 1961) that parasitizes and feeds upon larvae and pupae of the cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), which infest seeds of *Vigna unguiculata* (Fabaceae). Females of *E. vuilleti* tend to protect the host they exploit by displaying aggressive behaviors towards conspecific competitors (Mohamad et al., 2010; Mathiron et al., 2018). Previous studies have shown that one major factor affecting aggressiveness and contest outcomes in *E. vuilleti* females is their number of mature eggs (i.e., egg load): females are usually more aggressive and are more likely to win contests when they have a greater egg load (Mohamad et al., 2010, 2012; Mathiron et al., 2018, 2019b). Moreover, Mathiron et al. (2019a) showed that wasps fighting over host access were more aggressive when they had more ready-to-lay eggs, with this effect being stronger when females were injected with JH. Finally, ecdysone is the main compound secreted by reproductively active females (Bodin et al., 2007, 2009), and a simple contact with a host can trigger an increase in its levels, correlated with the maturation of a single egg within 24 hours (Casas et al., 2009). Altogether, these results underlie the potential of ESH as a behavioral mediator in *E. vuilleti*. Surprisingly, nothing is known about the role of this hormone family in aggressiveness and contest outcome during competition for host access.

A first step to understand the endocrine basis of phenotypic plasticity is to measure inter-individual variation in hormone titers (Zera, 2007). A first experiment was therefore designed to determine the natural ESH titers circulating in *E. vuilleti* females that fight over a host and to what extent contest aggressiveness and outcome relate to these titers. We expected ESH titers to positively vary with the number of aggressive behaviors displayed by females, and that winner females would have higher titers than losers. Another common method that enables understanding how hormonal change affects individual responses is hormone manipulation via the administration of a given amount of hormones to animals (Tibbetts & Izzo, 2009). A second experiment was therefore designed to determine whether ESH manipulation affects female reproductive status. As for many other insect species, we predicted ESH to have a gonadotropin effect in *E. vuilleti* females, i.e. wasps treated with ecdysone would have more ready-to-lay eggs than control females (i.e. treated with vehicle). In a third experiment, we studied whether aggressiveness and outcome of contest between females were influenced by ecdysone treatment. We expected that individuals treated with ecdysone would display more aggressive behaviors, and would ultimately be more likely to win contests for hosts than control females.

Material and Methods

Laboratory breeding

We collected *E. vuilleti* on cowpea seeds infested by the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus* in Togo (West Africa) in 2007. According to the methodology described by Jaloux et al. (2004), we then bred parasitoids in the laboratory (IRBI, University of Tours, France) on larvae and pupae of *C. maculatus*. We dissected cowpea seeds to collect hosts for *E. vuilleti*, which were then placed individually in a standard transparent gelatin capsule (length: 2 cm, diameter: 0.6 cm). By mimicking a cowpea seed, this system facilitates observation of the number of eggs laid by females, without significantly altering their oviposition behavior (Gauthier & Monge, 1999). Previous studies have shown that after a period of acclimation, parasitoid females behave in the same manner to the presence of hosts inside seeds and capsules (Gauthier & Monge, 1999; Jaloux et al., 2004), although the number of eggs laid on hosts is slightly lower inside capsules (Damiens et al., 2001).

Females' preparation for behavioral observations

During the following three experiments, we isolated parasitoid females directly at their emergence to prevent them from having any previous experience of oviposition and competition. We then placed them individually in petri dishes (diameter: 8.5 cm; height: 2.7 cm), provided with a piece of cotton soaked in water and one pupa of *C. maculatus* located in a gelatin capsule that was renewed each day preceding the experiments. In addition, we gave one male to each female during the first day for mating and oogenesis stimulation (Terrasse & Rojas-Rousse, 1986). *Eupelmus vuilleti* is a synovigenic parasitoid species (Jervis et al., 2008): emerging females have a few ready-to-lay eggs and they mature additional eggs throughout their adult life (oviposition activity increases over time and peaks three days after emergence; Jaloux et al., 2004). We carried out all experimental procedures in a climate room at 30°C and 12:12 h light:dark.

Experiment I: ESH titers, aggressiveness and outcome of contests

Experimental procedure

To facilitate wasps' identification during contest, we marked them on the dorsal part of their thorax with a dot of bright yellow or bright red acrylic paint. On the day of behavioral observations, we deprived females of host for at least 2h before the experiment so that they were more ready to oviposit. All females were of the same age (3 days old), and marked with different colors. Paint color did not affect contest outcomes (wasps painted red won 15 of 25 contests; binomial test: $P = 0.42$). At the beginning of the observation, we simultaneously introduced wasps into an arena consisting of a plastic block made of three chambers linked by a narrow channel (adapted from Petersen and Hardy, 1996). Females could freely move throughout the entire arena.

We placed two females in the central chamber already containing a 4th instar larva of *C. maculatus* previously placed in a capsule. A previous study showed that females that experienced oviposition on *C. maculatus* pupae are more motivated to get access to a 4th instar larva (Mathiron et al., 2018). In a patch with hosts, females often stop their behavioral oviposition sequence after detecting a conspecific (females raised their antennae in the direction of their opponent; Mohamad et al., 2010). Wasps then either simply kick their opponent with their legs without taking their ovipositor out of the capsule (defensive behavior)

or it can escalate to a full attack, in which case one female generally chases her opponent away from the capsule, hits her with her head or mounts her (Mathiron et al., 2018). Chasing, hitting and mounting can lead to the loser leaving the central chamber of the arena. During all tests, we therefore recorded oviposition, host-feeding and aggressive behaviors displayed by each female. All observations lasted 1h or were stopped when i) one female pushed her opponent out of the central chamber, ii) one exited the central chamber for at least 2 min or iii) neither female touched the host nor displayed agonistic interactions for at least 2 min. When both females stayed in the central chamber during the whole time of observation, the winning female was determined as the one displaying oviposition behaviors.

We immediately froze wasps at -20°C after the experiments, we then weighed them using an electronic balance (Ohaus Discovery® model, accuracy: 0.01 mg) and stored them at -20°C until sample preparation for hormonal quantification. In order to keep as much biological material as possible for subsequent ESH quantification, we did not dissect females to determine their egg load.

ESH quantification using Enzyme Immunoassays

We placed each parasitoid in a 1.5 mL conical Eppendorf tube with 0.5 mL of methanol (99% HPLC grade), and we crushed them with a polypropylene pestle. After one hour at ambient temperature, we centrifuged samples (10,000g during 5 min), and we transferred 0.4 mL of the supernatant methanol into a new tube. We dried down these extracts in a SpeedVac (AES I010 Thermo Savant), and we then stored them at -20°C, until we resuspended samples in 0.180 mL of phosphate buffer (0.01 M) before ESH titers quantification.

Immunoassays (EIA) used for the determination of ESH was done according to the method of Porcheron et al. (1989) modified for the use of a peroxidase conjugate of 20HE as a tracer (De Reggi et al., 1992). The L2 polyclonal antibody (gift from Dr. Delbecque, University of Bordeaux, France) is very sensitive to ecdysone, 2-deoxyecdysone and 3-dehydro-ecdysone, but ca. six times less sensitive to 20HE. ESH titers are expressed in ecdysone equivalents (E-eq., expressed in units of pg/mg female parasitoid), as this compound was used for reference curves. In order to verify the reproducibility of our results, each sample measured by EIA was analyzed in duplicate.

Experiment 2: Effect of ecdysone on females' reproductive status

Experimental procedure

To investigate the influence of ecdysone manipulation on female reproductive status, we randomly assigned two-day old wasps to one of the four following treatments: they received either 0.04 µL of methanol or 0.04 µL of three different quantities of ecdysone (purchased from Sigma-Aldrich, Inc.) dissolved in methanol (14, 64 or 120 pg). Immediately after being immobilized on a petri dish that was cooled by ice, we injected wasps into the abdomen through the intersegmental membrane using the nanoliter injector Nanoject III (Drummond Scientific Company). We then placed females individually in a petri dish and we froze them at -20°C, either 4h (N = 59, 60, 59 and 57 for injection of 0, 14, 64 and 120 pg, respectively) or 24h (N = 68, 67, 67 and 62 injection of 0, 14, 64 and 120 pg, respectively) after injection. We deprived wasps of host so that no mature egg was laid during this period. Finally, after weighing all females, we dissected part of them (N = 119 and 118 for 4h and 24h post-injection treatment, respectively) to count mature (i.e. ready-to-lay) oocytes in their abdomen, and we kept the

other part for hormone extraction and quantification ($N = 117$ and 147 for $4h$ and $24h$ post-injection treatment, respectively).

ESH quantification

We used the same procedure as in experiment I for hormone extraction and quantification.

Experiment 3: Effect of ecdysone on females' aggressiveness and contest outcome

To investigate the influence of ecdysone manipulation on female aggressive behavior and probability of winning a contest, we randomly assigned three-day old wasps to two different injection treatments: we injected females either with $0.04 \mu\text{L}$ of ecdysone diluted in methanol (quantity = 64 pg) or $0.04 \mu\text{L}$ of methanol alone. We marked wasps the day before behavioral observations to allow individual identification during contests. Paint color did not affect contest outcomes (wasps painted red won 28 of 53 contests; binomial test: $P = 0.78$). We deprived females of host for at least $2h$ before the start of the contest so that they were more ready to oviposit. Following the procedure described in experiment I, we simultaneously introduced two wasps into the central chamber of the contest arena at the beginning of the observation.

We ran contests between either i) one control female (i.e., injected with methanol only) and one test female (i.e., injected with ecdysone; $N = 28$), or ii) between two control females ($N = 25$), challenging for a 4th instar larva of *C. maculatus* located in gelatin capsule and previously placed in the central chamber of the contest arena. Contests occurred between females of the same age (3 days old), marked with different colors and visually matched for size; post-experiment data analysis confirmed that contestants of the same dyad did not differ significantly in body mass (paired t-test: $t_{52} = -0.85$, $P = 0.40$). Both females could freely move throughout the entire contest arena. Observations lasted $1h$ maximum. During all tests, we recorded oviposition, host-feeding and attack behaviors displayed by each female. When both females of a dyad stayed in the central chamber during the whole time of observation, we determined the winning female as the one exhibiting oviposition behaviors.

After each contest, we counted the number of eggs laid on the host by the winning female, and we froze all wasps at -20°C . We finally weighed them and dissected them to count the number of mature eggs in their ovaries.

Statistical analysis

We performed data analyses with the software Rstudio (RStudio Team, 2016), using $\alpha = 0.05$. Our general approach was to use, when possible, parametric analyses in which the assumed distribution of residuals was matched to the data rather than transforming data to fit standard assumptions (Wilson & Hardy, 2002; Hardy & Briffa, 2013). However, we used non-parametric tests when parametric conditions were not satisfied.

Experiment I: On the 30 contests that we observed during experiment I, 25 contests were resolved (i.e. there was a clear winner and loser female). Therefore, we only considered these contests in the analysis. We first randomly assigned one of the 2 females of each replicate as the focal female, using the ALEA function of Microsoft Excel, and we performed a generalized linear model (GLM) assuming a

quasi-Poisson distribution of errors (link function = 'log') to test the effect of an interaction between ESH titers of focal females and ESH of their opponent on the number of attacks displayed by focal females. Then we calculated the relative number of attacks of focal females as the ratio: 'number of attacks of the focal female / (number of attacks of the focal female + number of attacks of the opponent)' and the relative difference of ESH titers between females as the ratio: '(ESH titer of the focal female - ESH titer of the opponent) / (ESH titer of the focal female + ESH titer of the opponent)'. We also defined contest outcome as a binary response: 0 = the focal female lost, 1 = the focal female won. We finally ran a GLM assuming a binomial distribution of errors (link function = 'logit') to investigate whether the interaction between the relative number of attacks of focal females and the relative difference in ESH titers between females affected the probability of the focal female winning.

Experiment 2: We first investigated whether the number of mature eggs significantly differed between the ecdysone quantity females received, 4h after injection, by performing a GLM assuming a quasi-Poisson distribution of errors (link function = 'log'). We then ran a generalized polynomial model (GPM) with a Poisson distribution of errors (link function = 'log') to explore the effect of ecdysone treatments on the number of mature eggs 24h after injection. We finally performed two GLM assuming quasi-Poisson distribution of errors (link function = 'log') to test at 4h and 24h post-injection the difference of ESH titers between females that were injected with different quantities of ecdysone. We realized post-hoc analyses using the R function 'emmeans'.

Experiment 3: On the 74 contests that we observed during experiment 3, 53 contests were clearly resolved. We only considered these contests in the following analysis. We first verified that initial egg load did not differ between ecdysone-treated females (N = 28; mean egg load $\pm$ S.E.: 2.6 ± 0.3) and control females (N = 78; mean egg load $\pm$ S.E.: 2.4 ± 0.2 ; Mann-Whitney test: U = 1197.5, P = 0.44). We then ran a GLM with a quasi-Poisson distribution of errors (link function = 'log') to test the effect of injection treatment, initial egg load of focal females, initial egg load of opponent females and two-way interactions between these variables on the number of attacks displayed by focal females. We also calculated the relative number of attacks of focal females as described for experiment 1, and we determined the relative difference in initial mature egg load between females as the ratio: '(initial egg load of the focal female - initial egg load of the opponent) / (initial egg load of the focal female + initial egg load of the opponent)'. We then performed a GLM with a binomial error distribution (link function = 'logit') to explore the influence of injection treatment, the relative number of attacks of focal females and the relative difference in egg load between females on the probability of the focal female winning. The model included the three main effects and the two-way interactions between variables.

For all analyses, we started with the maximal model and removed non-significant interactions to test the significance of main effects. Likelihood ratio and F statistics were calculated using the 'Anova' function (package car), which performs type 2 analysis of variance for GLM models, that is, invariant to the order in which effects are entered into the model (Fox & Weisberg, 2019).

Results

Experiment I: ESH titers, aggressiveness and outcome of contests

We found that the number of attacks displayed by females varied neither with their ESH titers (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: $F_{1,22} = 0.01$, $P = 0.91$), their opponent's ESH titers ($F_{1,22} = 0.33$, $P = 0.54$) nor the interaction between these variables.

Table 7.I. Effect of relative number of attacks and relative difference in ESH titers on winning probability of focal females.

Factors affecting contest outcomes	Estimates	d.f.	G	<i>P</i>
Intercept	-5.782			
Relative attacks	13.81	1	13.9	< 0.001
Relative difference in ESH titers	-2.638	1	4.57	0.03
Relative attacks x Relative difference in ESH titers	13.31	1	2.35	0.12
Residuals		21		
Total		24		

P values of significant explanatory variables are highlighted in bold font.

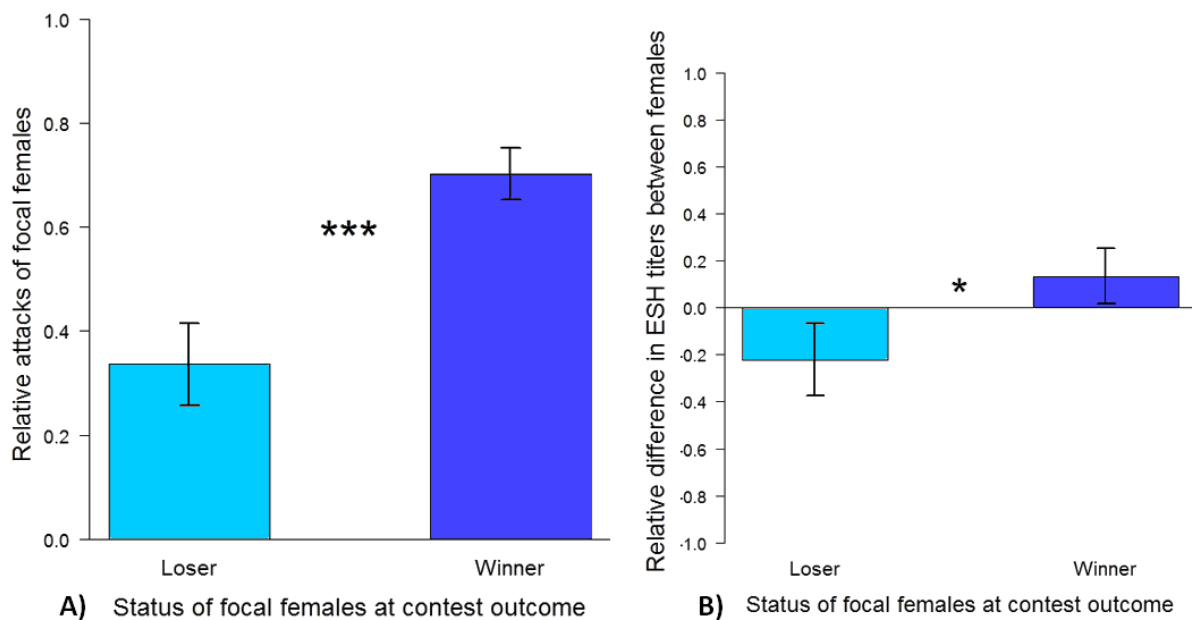
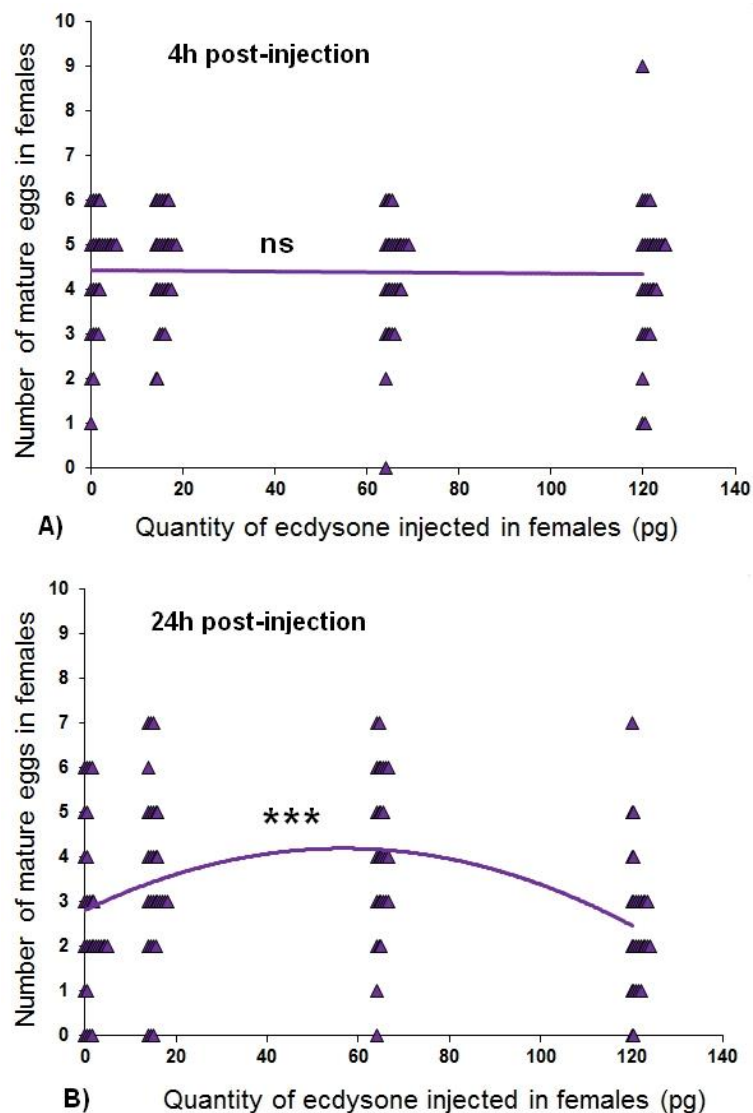


Figure 7.I. Status of focal females (loser: $N = 10$ or winner: $N = 15$) after conflict resolution ($N = 25$). A) Mean ($\pm$ S.E.M.) relative attacks of focal females. ***: $P < 0.001$. B) Mean ($\pm$ S.E.M.) relative difference in ESH titers (pg E-eq/female) between females. *: $P < 0.05$.

The probability of a female winning a contest was not significantly affected by the interaction between the relative number of attacks and the relative difference in ESH titers between females (**Table 7.I**). However, it was significantly influenced by both factors independently (**Table 7.I**): winner females displayed significantly more attacks (mean $\pm$ S.E. = 18 ± 3 attacks) than their opponent (mean $\pm$ S.E. = 9 ± 2 attacks) compared to loser females (mean $\pm$ S.E. = 9 ± 2 attacks) with their opponent (mean $\pm$ S.E. = 21 ± 7 attacks; **Fig. 7.IA**). In addition, focal females were more likely to win contest when they had higher ESH titers (mean $\pm$ S.E. = 127.3 ± 25.2 pg E-eq / mg of female) than their opponent (mean $\pm$ S.E. = 74.9 ± 8.8 pg E-eq / mg of female) compared to loser females (mean $\pm$ S.E. = 53.6 ± 13.8 pg E-eq / mg of female) with their opponent (mean $\pm$ S.E. = 95 ± 24.3 pg E-eq / mg of female; **Fig. 7.IB**).

Experiment 2: Effect of ecdysone treatment on females' reproductive status



The number of mature eggs in females did not vary across treatments 4h after injection ($F_{1,117} = 0.09$, $P = 0.77$; **Fig. 7.2A**). However, egg load was significantly influenced by the treatment 24h after injection, with a dose-dependent effect of ecdysone injection on egg maturation reaching the highest positive effect at 64 pg ($G_1 = 14.33$, $P < 0.001$; **Fig. 7.2B**).

The ESH titers in females varied across treatments both 4h after injection (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: $F_{3,112} = 41.77$, $P < 0.001$; **Fig. 7.3A**) and 24h after injection (GLM with quasi-Poisson distribution of residuals: $F_{3,142} = 21.66$, $P < 0.001$; **Fig. 7.3B**). Thus, females injected with 120 pg of ecdysone had significantly higher ESH titers than females injected with 0 pg (4h: $P < 0.001$; 24h: $P < 0.001$), 14 pg (4h: $P < 0.001$; 24h: $P < 0.001$) or 64 pg (4h: $P < 0.001$; 24h: $P = 0.025$) of ecdysone. Moreover, females injected with 64 pg of ecdysone had significantly higher ESH titers than both females injected with 0 pg (4h: $P < 0.001$; 24h: $P < 0.001$) and 14 pg (4h: $P = 0.01$; 24h: $P = 0.005$), but no significant difference was found between these two treatments (4h: $P = 0.051$; 24h: $P = 0.8$).

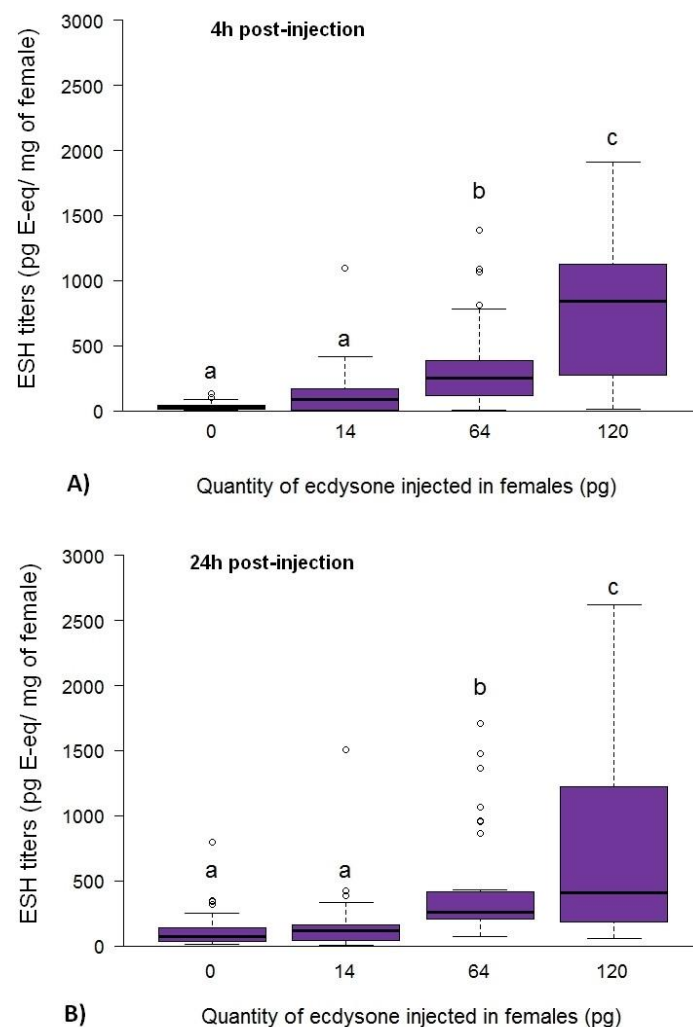


Figure 7.3. ESH titers (pg E-eq / mg of female) in females injected with different quantity of ecdysone diluted in methanol (0, 14, 64 and 120 pg). A) 4h after injections ($N = 30, 30, 29$ and 27 for injection of 0, 14, 64 and 120 pg, respectively) and B) 24h after injections ($N = 38, 37, 38$ and 33 for injection of 0, 14, 64 and 120 pg, respectively). Different letters indicate a statistical difference between treatments.

Experiment 3: Effect of ecdysone treatment on female aggressiveness and contests outcome

The number of attacks displayed by females was neither influenced by the injection treatment ($F_{1,49} = 1.45$, $P = 0.23$), the initial egg load of females ($F_{1,49} = 3.09$, $P = 0.08$), the initial mature egg load of their opponent ($F_{1,49} = 3.39$, $P = 0.07$) nor any interactions between these variables.

Table 7.2. Effect of injection treatment, relative number of attacks and relative difference in egg load on the winning probability of focal females.

Factors affecting contest outcomes	Estimates	df	G	<i>P</i>
Intercept	-0.5346			
Injection treatment (control)	-1.7524	1	6.09	0.01
Relative attacks	3.6443	1	16.8	< 0.001
Relative difference in egg load	-0.0934	1	0.02	0.89
Residuals		49		
Total		52		

P-values of significant explanatory variables are highlighted in bold font.

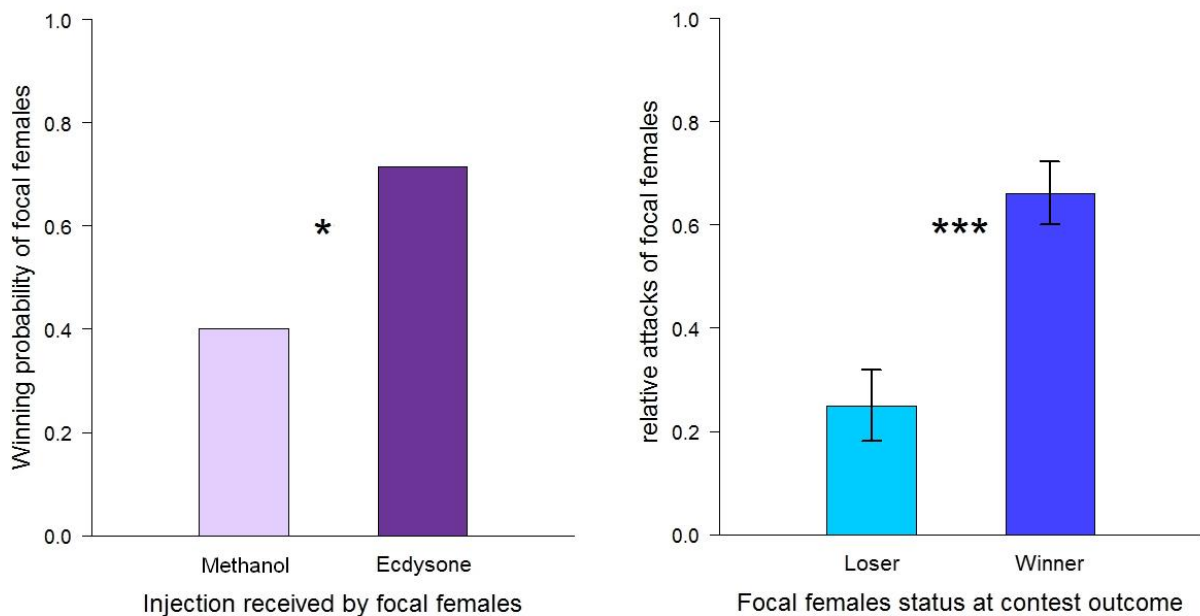


Figure 7.4. a) Winning probability of focal females according to the injection treatment they received before contest (methanol (control): $N = 25$ or ecdysone in methanol: $N = 28$). b) Mean ($\pm$ S.E.M.) relative number of attacks of focal females according their status (loser or winner) after conflict resolution ($N=25$). *: $P < 0.05$; ***, $P < 0.001$.

The probability of a female winning a contest was significantly influenced by the injection treatment and by the relative number of attacks (**Table 7.2**). Wasps injected with ecdysone were more likely to win contest than females injected with the vehicle alone (**Fig. 7.4A**), and females had more chance to win when they displayed relatively more attacks than their opponent (**Fig. 7.4B**). However, we found no effect of the relative difference in egg load between females (**Table 7.2**) nor interactions between variables.

Discussion

Our work aimed to explore the role of ESH in female reproductive status, aggressiveness and conflict resolution over host in the solitary ectoparasitoid *E. vuilleti*. First, we showed no link between naturally circulating ESH titers in females and their aggressiveness when fighting for host access, but winner females had higher hormone titers than loser females after contest. Moreover, when measuring how ecdysone manipulation affects egg maturation, we found that ecdysone injection did not influence mature egg load after 4h, but had a dose-dependent gonadotropin effect 24h post-injection. Finally, ecdysone injections had no effect on females' aggressiveness during contest over host, but females were more likely to win contest when they were injected with ecdysone and when they were more aggressive than their opponent.

Short-term effect of contest on ESH titers

In our first experiment, we quantified the naturally circulating ESH titers in *E. vuilleti* females that compete for host access. We first found that ESH titers in contestants were not correlated to their level of aggressiveness. Kelstrup et al. (2014a, b) also showed no relationship between ESH titers and aggressive behaviors, neither in females of the caste-flexible epiponine wasp *Synoecca surinama*, nor in queens and workers of the swarm-founding eusocial wasp *Polybia mycans*. If our experiment suggests that ESH are not involved in mediating aggressive behaviours in insects, few studies have actually measured the relationship between ESH titers and aggressiveness (Tibbetts et al., 2019); more investigations are needed to allowed better comparisons and generalisations. The absence of a correlation between aggressiveness and ESH titers in *E. vuilleti* females may come from the fact that other hormones already act as mediator of aggressive behaviors in wasps fighting over host. A previous study in this species indeed showed that JH is involved in increasing the number of attacks displayed by competing females (Mathiron et al. 2019a), but we still lack of information about the relationship between naturally circulating JH titers in wasps and their level of aggressiveness during contests.

Moreover, *E. vuilleti* females won contest over host more frequently when they were more aggressive than their opponent. It is well known both in vertebrates and invertebrates taxa that individuals displaying higher levels of aggressiveness during intraspecific competition are more likely to win access to indivisible resources (Breed & Bell, 1983; Hardy & Briffa, 2013; Hsu et al., 2006). For example, Reddon et al. (2011) showed, in the cichlid fish *Neolamprologus pulcher*, that individuals winning fights are the most aggressive contestants whereas in shore crabs *Carcinus maenas*, starved males fought harder and are more likely to win access to a cockle on which they feed (Dissanayake et al., 2009). More interestingly, females that won fight over host had higher ESH titers than loser females. This agrees with Brent al. (2006) who showed in the advanced eusocial queenless ant *Streblognathus peetersi* that ESH titers are higher in high-ranking workers than in low rankers. In addition, two studies in bumblebees have also determined that ESH were higher in dominant queenless workers than in lower rank workers (Bloch et al., 2000b; Geva

et al., 2005). However, 20HE titers in the haemolymph are not associated with dominance rank of females in the late pre-emergent stage in both *Polistes dominula* and *Polistes smithii* (Kelstrup et al., 2015). To our knowledge, our study was the first one to investigate the link between contest outcome and ESH titers in a non-social insect species.

Our results suggest that ESH plays an important role for *E. vuilleti* fitness as they may favor the access to host. However, at this stage, we cannot conclude whether outcomes of contests regulated ESH titers in winner and loser females or ESH titers drove contest outcomes. Moreover, as we did not dissect females for ESH titers quantification to maximize hormone measurement, we had no information about initial mature egg load of contestants and we were not able to test the effect of the relative difference in egg load between females in our statistical models. As some ESH are stored in the eggs of *E. vuilleti* (Mondy et al., 2006), we cannot exclude the fact that the effect of ESH titers on outcome of contest only reflects the effect of egg load. We therefore needed hormone manipulation in order to disentangle the effect of ESH from that of mature eggs on aggressive behavior and winning probability of wasps.

Effect of ecdysone on female reproductive status

In our second experiment, we investigated the role of ecdysone injection on females' reproductive status. Our results showed that their fertility varied after 24h according to the amount of ecdysone injected in individuals. Injection treatment increased the number of ready-to-lay eggs, with the highest effect at 1600 pg/ μ L. This result implies that ecdysone has a gonadotropin effect in *E. vuilleti* females at this concentration. This was expected given that ESH are known to play an important role in the control of reproduction in insects (reviewed in Nijhout, 1994; Elekonich & Robinson, 2000; Ringo, 2002) and an increase in ESH levels after contact with hosts correlates with the production of one additional egg within 24h in *E. vuilleti* (Bodin et al., 2007, 2009; Casas et al., 2009). In Hymenoptera, ESH are also associated with reproductive activity in the bumblebee *Bombus terrestris* (Bloch et al., 2000b; Geva et al., 2005), and in the honeybee *Apis mellifera* (Robinson et al., 1991), but not in the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. (Hartfelder et al., 2002). The absence of visible response of ecdysone injection on egg load at the highest dose (i.e., 3000pg/ μ L) may suggest the action of negative feedback on the response pathway of the ESH receptors. Like other hormone systems, ESH are known to inhibit their own biosynthesis via negative feedback loops, as well as via direct and indirect feedback mechanisms (Beydon & Lafont, 1983; Parvy et al., 2014). In addition, Mathiron et al. (2019a) showed that intra-abdominal injections of JH increased the number of mature eggs in *E. vuilleti* females after 24h. Even if the exact role of these hormones remains to be precisely determined, our results suggest that JH and ecdysone both modulate females' reproductive status in this parasitoid species. This is not surprising as JH commonly interacts with ESH in a variety of contexts in insect biology, including ovarian development (reviewed in Hagedorn, 1985; Nijhout, 1994).

Finally, we found no difference in the number of mature eggs between control and ecdysone treated females 4h after injection. This is consistent with what we found in the third experiment where competitors had a similar egg load before contests, whether they were injected with ecdysone or with the vehicle only. As previously shown for JH manipulation in this species (Mathiron et al., 2019a), this suggests that significant difference in number of mature eggs due to hormone injection may be visible only after 4h post-injection. By observing *E. vuilleti* females fighting over host between 1h and 3h post-injection, we were thus able to disentangle the effects of ecdysone treatment and reproductive status on aggressiveness and contest outcomes.

Effect of ecdysone and subjective resource value on female competition

In our last experiment, we investigated the role of ecdysone injection and mature egg load on female aggressiveness and contest outcome. We found that female reproductive status did not influence their behavioral decisions during fights. Our results seem surprising since previous studies in this same species showing that a female with a higher egg load than her opponent is generally more aggressive and has a higher probability of winning access to a host (Mohamad et al., 2010, 2012; Mathiron et al., 2018, 2019a). Game theory models indeed predict that the outcome of a conflict is influenced by the existing asymmetry between competitors in terms of subjective resource value ('SRV'; Maynard Smith & Parker, 1976; Enquist & Leimar, 1987). Parasitoid females with more ready-to-lay eggs should place a higher value in the hosts, which should motivate them to fight more intensively and win more often, as it has been shown in the parasitoid wasp *Goniozus nephantidis* (Stokkebo & Hardy, 2000; but see Goubault et al., 2007a). Nevertheless, because the injection of ecdysone did not have any visible effect on egg load before contests in *E. vuilleti*, and because the relative difference in egg load between females did not significantly influence contest outcome, this means that the role of ecdysone on the probability of winning was not due to an indirect effect on this component of the SRV.

We found that aggressiveness of contestants did not significantly varied according to the injection treatment. This is consistent with the results of our first experiment showing no link between naturally circulating ESH titers females and the number of attacks displayed during fights. Both hormone quantification and hormone manipulation confirm that ESH are not involved in the modulation of aggressive behaviors during contest over host in *E. vuilleti*. However, ecdysone treatment affected significantly contest outcome: wasps injected with ecdysone were more likely to win compared to control females. In the only one previous study that directly tested the effect of ESH injection on contests between conspecific individuals in insects, Röseler et al. (1984) found that injecting 20HE in females of the primitive eusocial wasp *Polistes dominula*, alone or coupled with JH-I, also increased the probability of reaching a dominant status compared to control individuals. Our work is therefore the first one to underlie the importance of ESH in outcome of intraspecific competition for accessing to an indivisible resource in a non-social Hymenoptera.

How can ecdysone increase the probability of winning contest?

Since ecdysone treatment did not appear to affect female aggressiveness, the mechanism by which females injected with ecdysone were favored during contest remains to be determined. Arnold and Regnier (1975) showed that ESH stimulate the synthesis of cuticular hydrocarbons (CHC) since the pupal stage in the diptera *Sarcophaga bullata*, and Wicker & Jallon (1995) suggested that ESH influence the production of CHC in *Drosophila melanogaster*. A first hypothesis may be that the injection of ecdysone modified the CHC profile of individuals and gave information on their physiological state to their opponent, as previously demonstrated in many eusocial insects (see for example Richard & Hunt, 2013; Kelstrup et al., 2015). However, because of the relatively short delay between injections and behavioral observations, it is unlikely that CHC profile of females treated with ecdysone had already changed and affected contestants' decisions in our experiment. Another interesting possibility is that ecdysone manipulation increased females' motivation to lay their eggs on host, leading them to exploit

the host faster than control conspecifics and winning conflict more often, independently of their level of aggressiveness. Because Mathiron et al. (2019a) found that an injection of JHIII upregulated aggressive behaviors in *E. vuilleti* females but did not affect contest outcome, this again suggests a possible interplay of both hormones on wasps' behavioral decisions during intraspecific competition context. Future experiments are necessary to understand the relative and / or joint action of these two hormones in the modulation of aggression and conflict resolution for host access in this species.

Conclusion

By testing the role of ESH on both reproductive status and behavioral decisions during contest over host in females of *E. vuilleti*, we have highlighted for the first time that i) ecdysone has a gonadotropin effect in an ectoparasitoid species and ii) ecdysone injections increases the probability of winning a conflict in a non-social Hymenoptera. However, we found no evidence that ecdysone fuels aggressive behaviors like JH does in this species (Mathiron et al., 2019a). We thus call for future work to investigate the role of the interplay between JH and ESH on the modulation of behaviors during intraspecific competition in insects.

Acknowledgements

We are grateful to Charlotte Lécureuil and Joël Meunier for their advices, and Adeline Dumet and Fabrice Vannier for their technical assistance.

Partie IV

Discussion générale et perspectives

« Les limites existent uniquement si tu le permets »

Végéta, Dragon Ball Z

Discussion

Ma thèse en bref

Au cours de ma thèse, nous avons conduit différentes expériences en conditions contrôlées pour déterminer les facteurs modifiant les comportements agressifs et l'issue des conflits chez les femelles d'une guêpe parasitoïde solitaire, *Eupelmus vuilleti*, lorsqu'elles se battent pour accéder à un hôte : une larve ou une nymphe de *Callosobruchus maculatus*. Les juvéniles dépendant entièrement de leur hôte pour se développer, tous facteurs modifiant le comportement des femelles parasitoïdes affectent ainsi directement leur succès reproducteur (Godfray, 1994 ; **Chapitre I**). Les résultats présentés dans les différents chapitres apportent de nouveaux éléments concernant la façon dont les différentes stratégies comportementales adoptées par les femelles parasitoïdes pour acquérir un hôte ont pu évoluer dans un contexte de compétition intraspécifique directe.

Premièrement, l'agressivité des parasitoïdes et l'issue des combats peuvent être influencées par différents facteurs modifiant la valeur de l'hôte convoité. Nous montrons que plusieurs composantes de la valeur subjective (charge en œufs et pré-expérience de ponte) et objective de l'hôte (stade de développement de l'hôte) peuvent interagir et modifier l'agressivité des femelles d'*Eupelmus vuilleti* et la probabilité de gagner l'accès à l'hôte. Nos résultats soulignent la forte pression qu'exerce les asymétries entre les adversaires dans la valeur qu'ils placent dans une ressource sur leurs comportements lors des combats (**Chapitre 3**).

Deuxièmement, la capacité à identifier et à discriminer des congénères génétiquement apparentés lors de conflits permettrait aux individus d'éviter une compétition agressive coûteuse envers leurs apparentés tout en maximisant leur fitness inclusive (Hamilton, 1964). Il a toutefois été montré, chez les espèces à faible dispersion, qu'un risque élevé de compétition entre apparentés peut prévenir l'évolution d'une telle réduction de l'agressivité envers des congénères génétiquement proches (West et al., 2001, 2002). Cependant, nous ici montrons que la discrimination de parentèle peut affecter la probabilité d'escalader un conflit et la probabilité de résoudre ce conflit chez un parasitoïde à faible dispersion. Les femelles d'*Eupelmus vuilleti* semblent se baser sur deux mécanismes de reconnaissance : le phenotypic matching et la familiarité, qui modifient leurs stratégies au cours des différentes phases d'un conflit (**Chapitre 4**).

L'ajustement de l'agressivité par les femelles parasitoïdes selon les situations pourrait être médié par l'action des hormones. L'hypothèse du challenge fournit ainsi un cadre théorique pour étudier la manière dont les conflits associés à la reproduction sont liés à des changements physiologiques chez les animaux. Chez les insectes, les recherches sur le lien entre les hormones et les comportements agonistiques ciblent principalement le rôle de l'hormone juvénile (JH), et dans une moindre mesure les ecdystéroïdes (ESH). Notre revue de la littérature met en évidence que les taux de JH peuvent varier à court et à long termes lorsque les individus sont confrontés à une situation de compétition, et suggère ainsi des fonctions parallèles avec la testostérone chez les vertébrés. Cependant, il paraît clair que les recherches sur la

médiation hormonale du comportement des insectes ne font que commencer, comme en témoigne le faible nombre de données empiriques sur le sujet par rapport à ce qui est retrouvé sur la testostérone chez les vertébrés. De plus, certains défis méthodologiques (e.g., méthodes de quantification hormonale, manque de protocole standardisé) rendent les investigations très compliquées. Réussir à tester l'hypothèse du challenge sur un large éventail d'insectes nous permettra notamment d'explorer la convergence fonctionnelle des hormones avec les vertébrés dans le cadre de la compétition intraspécifique (**Chapitre 5**).

Les données empiriques sur la médiation hormonale du comportement des insectes restent à ce jour relativement peu nombreuses, en particulier en ce qui concerne les espèces non-sociales. Nous avons donc exploré dans quelle mesure la JH et les ESH sont des médiateurs des comportements lors des combats chez *Eupelmus vuilleti*. Nous avons effectué des quantifications et des manipulations hormonales afin de tester le rôle de la JH (**Chapitre 6**) et des ESH (**Chapitre 7**) sur la reproduction des femelles parasitoïdes et leur comportement durant les combats. Nous montrons que les deux familles d'hormones sont toutes deux impliquées dans la maturation des œufs, mais qu'elles ont des actions différentes sur le comportement des parasitoïdes lors des combats. Alors que la JH semble agir sur l'agressivité mais pas sur l'issue des conflits, les ESH n'ont pas d'effet sur les comportements agressifs mais augmentent la probabilité de gagner l'accès à un hôte.

Ajustement des stratégies comportementales des individus lors de conflits

Se battre pour accéder à un hôte chez les parasitoïdes : une histoire de valeur

Lors d'un conflit entre animaux pour l'accès à une ressource indivisible, l'asymétrie entre les compétiteurs dans la RV joue un grand rôle dans l'intensité et dans l'issue du combat (Maynard Smith & Parker, 1976 ; Enquist & Leimar, 1987 ; Arnott & Elwood, 2008 ; Kokko, 2013). Cette asymétrie peut dépendre de facteurs agissant aussi bien sur la RV objective que sur la RV subjective (Enquist & Leimar, 1987 ; **Chapitre I**). Cependant, la plupart des travaux réalisés jusqu'à présent ne se sont focalisés que sur une composante à la fois (e.g., Brown et al., 2007 ; Stokkebo & Hardy, 2000 ; mais voir Humphries et al., 2006 ; Stockermans & Hardy, 2013). Or dans la nature, il semble évident que les asymétries entre individus sont déterminées par de multiples facteurs qui agissent de manière concomitante ; leurs effets peuvent alors être synergiques ou antagonistes. Il est donc primordial de tester et de comprendre les relations entre ces différents facteurs et de pouvoir identifier dans le meilleur des cas ceux qui ont un effet prépondérant. Nous ainsi avons montré au cours de ma thèse que l'asymétrie dans la RV – l'hôte dans le cas présent – dépend de plusieurs facteurs dont les interactions affectent grandement l'agressivité des individus et l'issue des combats.

D'une part, nous avons montré chez *Eupelmus vuilleti* que plusieurs composantes de la valeur objective (stade de développement de l'hôte) et subjective (charge en œufs, pré-expérience d'oviposition) de l'hôte peuvent interagir et modifier le comportement des femelles lors des combats (**Chapitre 3**). Ainsi, des femelles avec plus d'œufs matures ont une plus grande chance de gagner les combats, ce qui confirme que l'asymétrie dans la charge en œufs est un facteur primordial dans la résolution des conflits chez cette espèce (Mohamad et al., 2010, 2012). Les femelles valoriseraient davantage l'hôte (i.e., une RV subjective

plus élevée) car une charge en œufs plus élevée leur permettrait de pondre plus rapidement (Hughes et al., 1994 ; Stokkebo & Hardy, 2000 ; Mohamad et al., 2013 ; mais voir Goubault et al., 2007a). De plus, nous avons observé que l'effet de la différence de charge en œufs entre femelles gagnantes et perdantes est moins prononcée lorsque les femelles se battent pour une larve L4 de *Callosobruchus maculatus* (i.e., un hôte de meilleure qualité) que pour une nymphe. Ce résultat suggère l'importance de la valeur objective de l'hôte et corrobore de précédentes études montrant que les femelles défendant des hôtes de meilleure qualité (i.e., avec une RV objective plus élevée) ont une plus grande probabilité de gagner les combats (Humphries et al., 2006 ; Goubault et al., 2007b). Enfin, nous avons montré que des femelles privées d'hôte de bonne qualité sont plus agressives lorsqu'elles se battent pour accéder à un tel hôte et gagnent plus fréquemment les combats. Chez les parasitoïdes, la valeur subjective de l'hôte augmente lorsque les femelles proviennent d'un habitat de moins bonne qualité (Enquist & Leimar, 1987 ; Hughes et al., 1994 ; Mohamad et al., 2010, 2013), et les femelles provenant d'un tel environnement sont généralement plus agressives et gagnent plus souvent les conflits (Hughes et al., 1994 ; Mohamad et al., 2013 ; mais voir Goubault et al., 2007a).

D'autre part, nos expériences montrent que les femelles d'*E. vuilleti* sont capables lors des combats de discriminer des femelles génétiquement apparentées et/ou familières de celles qui ne le sont pas (même génotype *vs.* génotype différent ou issue de la même graine de Niébé *vs.* issue de graines différentes, respectivement). Ainsi, il était moins fréquent d'observer des combats agressifs entre femelles familières et génétiquement apparentées, et les conflits avaient plus de chance d'être résolus entre femelles familières (**Chapitre 4**). Dans un contexte de compétition intraspécifique, il serait plus avantageux pour un individu d'être moins agressifs envers des conspécifiques génétiquement apparentés (Hamilton & May, 1977 ; Griffin & West, 2002). Si nos résultats sont en accord avec la théorie de la sélection de parentèle (Hamilton, 1964 ; **Chapitre 1**), ils peuvent néanmoins sembler surprenant car *E. vuilleti* est une espèce avec une capacité de dispersion relativement faible (Cortesero et al., 1997). Certains modèles théoriques prédisent en effet que la discrimination de parentèle peut ne pas évoluer dans des populations où la dispersion des individus est faible, car il y a un risque élevé de compétition pour les ressources entre apparentés (West et al., 2002 ; **Chapitre 1**). Chez *E. vuilleti*, il est possible que les coûts énergétiques que représentent l'exploitation de l'hôte (Boisseau et al., 2017 ; **Chapitre 2**) soient suffisamment importants pour que la discrimination de parentèle puisse se maintenir : éviter de se battre et laisser un hôte au bénéfice d'une autre congénère génétiquement proche évite aux femelles une perte énergétique tout en favorisant leur fitness inclusive (Hamilton, 1964). Cependant, une autre hypothèse est que les femelles en présence d'une compétitrice familière et/ou génétiquement apparentée sont moins motivées à se battre et à gagner l'accès à un hôte car la présence d'une telle adversaire abaisserait la valeur subjective qu'elles accordent à l'hôte. Voir la discrimination de parentèle comme une composante de la valeur subjective d'une ressource pourrait être envisagé, et pourrait expliquer pourquoi ce phénomène semble si rare, voire absent, dans les conflits entre parasitoïdes et chez les insectes non-sociaux en général (revue dans Fellowes, 1998 ; Griffin & West, 2002). Par exemple, Innocent et al. (2011) n'ont pas trouvé d'effet de l'apparentement génétique sur le niveau d'agressivité des interactions entre mâles du genre *Melittobia* qui se battent pour accéder à des femelles. Cependant, les auteurs n'ont pas montré non plus que l'intensité des combats variait avec le statut vierge/déjà accouplé des mâles (i.e., une composante de la RV subjective). Leur hypothèse est que la courte durée de vie des mâles et l'opportunité limitée d'accéder à une partenaire sexuelle expliquent pourquoi la meilleure stratégie est de se battre quoi qu'il arrive (Innocent et al., 2011). Cette explication pourrait très bien s'appliquer à la discrimination de parentèle

dans ce cas : la valeur subjective que les *Melittobia* mâles placent dans les femelles ne varient pas en fonction de l'apparentement génétique avec leurs compétiteurs.

Les mécanismes de la reconnaissance interindividuelle

Les différentes études réalisées pendant ma thèse suggèrent que les femelles d'*E. vuilleti* sont capables d'ajuster leurs comportements durant les conflits en se basant aussi bien sur des caractéristiques qui leur sont propres que celles présentes chez leur adversaire. Néanmoins, les mécanismes impliqués dans la reconnaissance de ces différents traits restent encore à déterminer. Dans cette perspective, de bons candidats sont les hydrocarbures cuticulaires (CHC ; Lockey, 1988 ; de Renobales et al., 1991). En effet, le profil en CHC est aujourd'hui connu pour être un signal majeur dans la reconnaissance interindividuelle chez les insectes (Howard & Blomquist, 2005 ; Blomquist & Bagnères, 2010). D'ailleurs, des expériences antérieures ont déjà montré les capacités des femelles d'*E. vuilleti* à reconnaître des différences de profil en CHC chez leurs compétitrices, car elles peuvent changer le sexe de leurs œufs lors de l'exploitation de l'hôte après avoir détecté des CHC laissées par leurs congénères (Darrouzet et al., 2007, 2008, 2010).

Premièrement, puisque les femelles d'*E. vuilleti* modifient leurs comportements (i.e., discrimination) durant les conflits selon que leur adversaire est du même génotype et/ ou a émergé de la même graine de Niébé (**Chapitre 4**), cela suggère que les parasitoïdes ont identifié chez leur congénère des indices phénotypiques codés génétiquement (phenotypic matching ; Gadagkar, 1985) ou liés à l'environnement (familiarité ; Lizé et al., 2012). Il est alors possible que les femelles aient détecté des différences de profil en CHC codé génétiquement ou influencé par l'environnement. La reconnaissance de parentèle se basant sur des CHC associés à un apparentement génétique a été observée chez différentes espèces d'insectes telles que les blattes (Lihoreau et al., 2016), les guêpes (Gamboa, 2004), les termites (Dronnet et al., 2006) et les abeilles domestiques (Arnold et al., 1996). Par exemple, les blattes germaniques *Blattella germanica* distinguent de multiples niveaux d'apparentement en identifiant les odeurs cuticulaires héritées chez leurs conspécifiques (Lihoreau et al., 2016). Des études sur des hyménoptères parasitoïdes suggèrent aussi que certains CHC peuvent être caractéristiques d'individus génétiquement apparentés (Holler et al., 1991 ; Howard, 2001). Plusieurs études ont également mesuré la convergence biochimique entre les lipides de surface des plantes hôtes et les composés cuticulaires des insectes herbivores et leurs prédateurs ou parasitoïdes (voir Blomquist & Bagnères, 2010). Kühbandner et al. (2012) ont constaté que le changement d'hôtes au cours d'une génération seulement suffisait à ce que les femelles de la guêpe *Lariophagus distinctendus*, présentent des profils de CHC distincts. Ainsi, il est envisageable que les femelles d'*E. vuilleti* qui se développent sur des hôtes se nourrissant de la même graine de Niébé expriment un profil biochimique similaire, ce qui permettrait la reconnaissance des individus familiers (Ode et al., 1995 ; Singer, 1998). Par exemple, Von Beeren et al. (2011) ont montré que les fourmis parasites *Malayatelura ponerophila* acquièrent des CHC directement à partir de leur hôte, *Leptogenys distinctenda*. Cependant, les femelles d'*E. vuilleti* peuvent aussi avoir obtenu des composés spécifiques à la graine par simple frottement lors de leur émergence. Un contact physique peut en effet générer une variation dans le profil chimique en CHC (Lorenzi et al., 1996 ; Singer, 1998), comme cela a pu être observé chez les deux espèces parasites *Sulcopolistes sulcifer* et *Polistes semenowi* (Turillazzi et al., 1990 ; Zacchi et al., 1995). Dans le but de déterminer si les CHC sont le support de la reconnaissance de parentèle chez *E. vuilleti*, il serait intéressant de tester si le génotype des femelles explique des différences interindividuelles de profil

cuticulaire, en contrôlant autant que possible pour une probable composante environnementale (i.e., des femelles issues de la même graine). Par ailleurs, pour savoir si les femelles acquièrent leurs CHC via le développement sur l'hôte et/ou également par frottement avec la graine de Niébé lors de leur émergence, nous pourrions utiliser le système de capsule en gélatine pour comparer le profil d'individus ayant émergé d'une graine par rapport à celui d'individus ayant émergé d'une capsule où l'hôte proviendrait de cette même graine, en contrôlant ici pour la composante génétique (i.e., femelles de même génotype).

Deuxièmement, nos résultats montrent que des femelles provenant d'un environnement de bonne qualité (i.e., en contact avec des larves L4 de *C. maculatus*) sont plus agressives et ont plus de chance de gagner un combat pour l'accès à un hôte de basse qualité (i.e., une nymphe de *C. maculatus* ; **Chapitre 3**). Une de nos hypothèses de travail est que les apports énergétiques liés à la capacité des parasitoïdes à se nourrir de l'hémolymphe de l'hôte ont permis aux femelles provenant d'un habitat de meilleure qualité d'avoir un meilleur RHP (Jervis & Kidd, 1986 ; Lawrence, 1990 ; Godfray 1994 ; Giron et al., 2002). Or, il a été observé que les CHC peuvent changer au cours de la vie d'un insecte selon son statut nutritionnel (Blomquist & Bagnères, 2010), comme observé chez le bousier *Nicrophorus vespilloides* (Steiger et al., 2007). De plus, Liang & Silverman (2000) ont démontré que les fourmis argentines *Linepithema humile* font preuve d'agressivité intra-coloniale lorsque des fragments de colonies sont isolés et élevés selon différents régimes alimentaires, et que les hydrocarbures acquis provenant de proies sont utilisés pour la reconnaissance et la discrimination des membres de la colonie. Il est donc possible que les femelles d'*E. vuilleti* provenant d'un habitat de bonne qualité détectent des différences de profils en CHC indiquant un RHP inférieur chez leur adversaire provenant d'un habitat de faible qualité, et / ou que les femelles provenant d'un habitat de faible qualité détectent un fort RHP chez leur adversaire via les CHC ; de fait, ces dernières étaient moins enclines à se battre pour un hôte de moins bonne qualité. Pour explorer ces différentes pistes, il faudrait tout d'abord s'assurer que le profil en CHC des femelles varie en fonction de leur statut nutritionnel. Nous pourrions envisager d'analyser le profil cuticulaire de femelles ayant eu accès exclusivement à un hôte de bonne qualité ou de mauvaise qualité, ou encore, directement manipuler le statut nutritionnel des femelles via des injections de sucrose et de tréhalose – mimant ainsi artificiellement l'apport en sucres procuré par la piqûre nutritionnelle sur l'hôte (Giron et al., 2002) – pour ensuite analyser l'effet de ces injections sur leur profil en CHC par rapport à des femelles contrôles. Si les CHC des parasitoïdes changent en fonction de leur régime alimentaire (de façon qualitative et/ou quantitative), il faudrait alors tester comment l'alimentation affecte le RHP des compétitrices durant les combats pour l'accès à un hôte, et savoir si ces dernières sont capables d'ajuster leur comportement en conséquence.

Enfin, en accord avec de précédentes études réalisées sur la même espèce (Mohamad et al., 2010, 2012), nous montrons que la charge en œufs est le principal facteur influençant les comportements agressifs et l'issue des combats pour un hôte chez *E. vuilleti* (Mohamad et al., 2010, 2012) : des femelles avec plus d'œufs matures sont généralement plus agressives et gagnent plus fréquemment les combats (**Chapitre 3, 4 et 6** ; mais voir **Chapitre 7**). Ce constat renforce également les études montrant que l'asymétrie dans le statut reproducteur (i.e., une composante de la RV subjective) influence considérablement les décisions comportementales lors des conflits entre animaux (Enquist & Leimar, 1987 ; Arnott & Elwood, 2008). Ainsi, les femelles parasitoïdes avec des tissus reproducteurs plus développés accorderaient une plus grande valeur aux hôtes : elles seraient prêtes à pondre devraient donc être plus motivées pour se battre et avoir une probabilité plus élevée de gagner (Stokkebo & Hardy, 2000 ; Brown et al., 2006, 2007 ; Dissanayake et al., 2009). A l'heure actuelle, de nombreuses études suggèrent

fortement que les CHC peuvent être utilisés comme des signaux honnêtes du statut reproducteur des insectes (Blomquist & Bagnères, 2010). Chez la plupart des hyménoptères eusociaux, la fécondité et / ou la dominance sont associées à des différences de profil en CHC (revue dans Monnin, 2006 ; Richard & Hunt, 2013 ; Smith & Liebig, 2017). Un lien entre l'activité ovarienne et les CHC a été démontré chez plusieurs espèces de fourmis (Monnin et al., 1998 ; Peeters et al., 1999 ; Liebig et al., 2000 ; Cuvillier-Hot et al., 2001 ; Heinze et al., 2002), de bourdons (Bonavita-Cougourdan et al., 1991 ; Ayasse et al., 1995 ; Hefetz & Bloch, 1999) et de guêpes (Turillazzi et al., 2004 ; Sledge et al., 2004 ; Izzo et al., 2010 ; Mitra & Gadagkar, 2012 ; Kelstrup et al., 2015). Par ailleurs, ces différences de CHC peuvent être aussi médiées par l'action des hormones. Arnold & Regnier (1975) ont par exemple montré que l'ESH stimule la synthèse des CHC depuis le stade nymphal chez le diptère *Sarcophaga bullata*, et peut influencer la production de CHC chez *Drosophila melanogaster* (Wicker & Jallon, 1995). Chez les hyménoptères, des quantifications et des manipulations hormonales ont montré que des taux élevés de JH sont associés à des signatures cuticulaires de dominance et de fertilité chez *P. dominula* (Sledge et al., 2004 ; Izzo et al., 2010 ; Kelstrup et al., 2015). Le lien entre JH et profil en CHC a également été montré chez la guêpe *S. surinama* (Kelstrup et al., 2014b) et chez la fourmi *Myrmica eumenoides* (Lengyel et al., 2007), mais pas chez la guêpe *Polybia micans* (Kelstrup et al., 2014a). Dans le cas des conflits entre *E. vuilleti*, il serait tout d'abord intéressant de tester s'il existe une telle relation entre le nombre d'œufs matures dans l'abdomen des femelles et leur profil en CHC. Nous pourrions nous attendre à observer des différences quantitatives de certains CHC entre les femelles, celles avec une plus grande charge en œufs ayant une quantité plus importante en CHC. Si une corrélation (positive ou négative) entre ces traits est effectivement observée, il serait ensuite intéressant de tester dans quelle mesure les parasitoïdes sont capables, en se basant sur le profil en CHC, d'estimer la charge en œufs de leurs compétitrices et ensuite de modifier leur stratégie comportementale durant les combats. Ceci permettrait alors d'explorer le mode d'évaluation, propre (i.e., self-assessment) ou mutuelle (i.e., mutual assessment), employé par les femelles d'*E. vuilleti* quant aux asymétries qui existent entre les compétitrices.

Des modèles d'estimations basées sur la RV

Que ce soit ou non les CHC, nos différents travaux montrent que les femelles d'*E. vuilleti* détectent des indices leur permettant d'ajuster leur comportement et de minimiser les coûts associés aux conflits (Maynard Smith & Parker, 1976). Comme d'autres animaux (Morrell et al., 2005 ; Elwood et al., 2006 ; Hsu et al., 2008 ; Moore et al., 2008 ; Elias et al., 2008), il semble même qu'elles puissent utiliser différents mécanismes à différentes phases du combat (**Chapitre 4**).

Différents modèles de la théorie des jeux décrivent la manière dont les informations prises par les compétiteurs influencent les combats (Briffa et al., 2013 ; **Chapitre I**). Dans la littérature, les prédictions de ces modèles se basent majoritairement sur les corrélations entre le RHP d'un combattant et le coût du combat (généralement sa durée ; Arnott & Elwood, 2009). La forme d'évaluation la plus courante est le self-assessment, dans laquelle les animaux prennent leurs décisions en fonction de leur RHP uniquement (Arnott & Elwood, 2009), alors que dans le cas d'un mutual assessment, les individus évaluent le RHP de leur adversaire et le compare au leur (Enquist et al., 1990). Des études empiriques ont été menées pour évaluer l'applicabilité de ces modèles à un large éventail de taxa, mais identifier le type de stratégie qui opère dans un système donné se révèle néanmoins difficile (Elwood & Arnott, 2012 ; Palaoro & Briffa, 2017). Récemment, Rink et al. (2019) ont par exemple constaté que les analyses des combats entre mâles pour l'accès aux femelles chez le coléoptère *Heterochelus chiragricus* supportaient à la fois une stratégie de self-assessment et de mutual assessment.

Si de nombreuses espèces utilisent la taille du corps comme indicateur de leur capacité agonistique (Arnott & Elwood, 2009 ; mais voir aussi Briffa & Elwood, 2002 ; Tibbetts et al., 2013), les individus pourraient également utiliser des informations basées sur des traits physiologiques pour évaluer rapidement leur propre RHP (Vieira & Peixoto, 2013). Par exemple, Tibbetts et al. (2013) ont étudié comment la JH influence les comportements avant les combats chez la guêpe poliste *P. dominula*. Les individus traités avec du méthoprène étaient plus susceptibles de combattre un rival (dans ce cas, un modèle de guêpe gardant une parcelle de nourriture) que les témoins, et étaient également plus rapides à engager le combat. L'hypothèse des auteurs est que leurs résultats concordent avec le fait que la JH joue un rôle dans le self-assessment du RHP (Tibbetts et al., 2013). Au cours de ma thèse, nous avons également montré que la JH augmentait l'agressivité des femelles d'*E. vuilleti* (**Chapitre 6**), et que l'ecdysone augmentait la probabilité de gagner un combat pour l'accès à un hôte (**Chapitre 7**). Il serait alors envisageable que ces deux hormones jouent un rôle dans l'estimation du RHP chez ces femelles. Cependant, tout comme pour l'étude de Tibbetts et al. (2013), cette hypothèse ne prend pas en compte le rôle gonadotrope de la JH et de l'ecdysone et l'effet que ce rôle peut avoir sur la RV subjective des guêpes lors des combats. En effet, il n'est pas impossible que l'action positive des hormones sur le processus de maturation des œufs suffisent à augmenter la valeur que les femelles placent dans un hôte, et donc un taux plus élevé de JH ou d'ESH permettrait d'estimer leur propre RV subjective (self-assessment). Par ailleurs, si la RV subjective est un facteur majeur agissant sur les décisions comportementales lors des conflits chez *Eupelmus vuilleti* (**Chapitre 3, 4, 6**), il n'y a à l'heure actuelle aucune preuve que le RHP des femelles influence les combats pour l'accès à un hôte (Goubault et al., en préparation).

Les difficultés à tester les modèles d'évaluation chez certaines espèces (e.g., les parasitoïdes) peuvent donc venir du fait que l'asymétrie principale qui affecte les combats n'est pas celle dans le RHP des individus mais l'asymétrie dans la RV, et notamment sa composante subjective. Nous proposons ainsi de transposer les prédictions clés établies dans le cadre des modèles d'évaluation basés sur le RHP (voir **Fig. I.5**) à des modèles d'évaluations basés sur la RV subjective. Si les coûts du combat sont calculés en termes de durée comme c'est le cas classiquement, nous nous attendons, dans un cas de self-assessment, à ce qu'un individu capable uniquement d'estimer sa propre RV subjective continue à combattre jusqu'à atteindre un seuil limite au-delà duquel il abandonne le combat : la durée du combat devrait donc augmenter avec la RV subjective du perdant et du gagnant (**Fig. 8.Ia, b**). En revanche, dans le cas d'un mutual assessment, un individu capable d'évaluer la RV subjective d'un adversaire devrait abandonner plus rapidement le combat si la RV subjective de ce dernier est importante, et donc la durée d'un combat devrait diminuer lorsque la RV subjective du gagnant augmente (**Fig. 8.Ic, d**). Ces différentes prédictions restent pour l'heure à être testées chez des espèces où l'effet de l'asymétrie dans la RV est forte. Dans ce cadre, *Eupelmus vuilleti* semble être une espèce candidate toute trouvée.

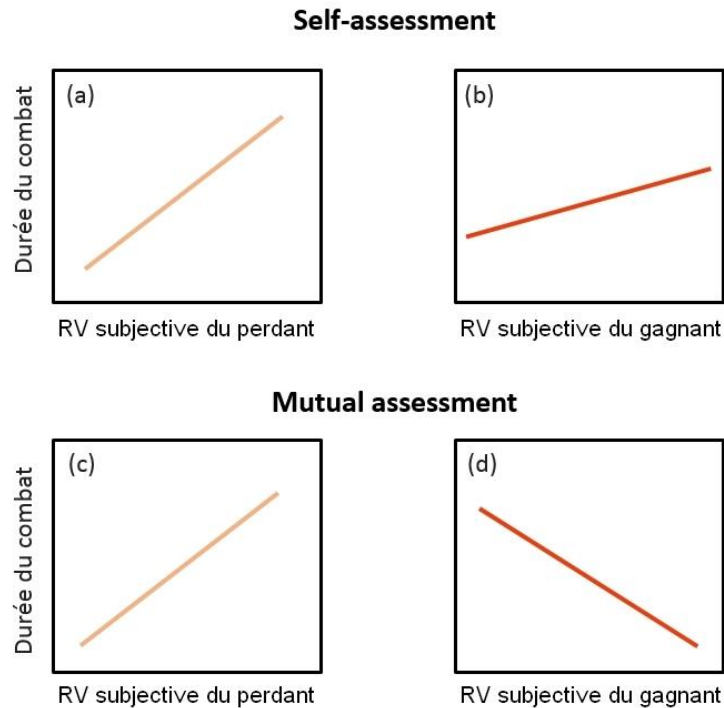


Figure 8.I. Relations attendues entre la durée des combats et la RV subjective des combattants. Quand les combats sont seulement déterminés par la RV subjective des perdants, la durée des combats augmente avec de la RV subjective des perdants (a) et avec celle des gagnants, mais moins nettement (b). Quand les combats sont véritablement déterminés par du mutual assessment, la durée des combats augmente également avec la RV subjective des perdants (c) mais à l’opposé, la durée des combats diminue avec la RV subjective des gagnants (d).

La médiation hormonale du comportement

Quelle hormone pour quelle action ?

Pendant ma thèse, nous avons montré grâce à des quantifications et des manipulations hormonales que la JH et les ESH sont impliquées dans la reproduction des femelles *Eupelmus vuilleti* et dans la médiation des comportements durant les combats pour l’accès à un hôte (**Chapitre 6 et 7**).

Premièrement, une injection intra-abdominale de JHIII ou d’ecdysone favorise la maturation des œufs 24h après le traitement. En accord avec de nombreux travaux réalisés chez les insectes, la JH et les ESH ont un effet gonadotrope chez les femelles de ce parasitoïde. La JH joue en effet un rôle important et diversifié dans la reproduction des insectes adultes, notamment en régulant la vitellogénèse dans le corps gras et l’absorption de la vitellogénine par les ovaires (revue par Tobe & Stay, 1985 ; Nijhout, 1994 ; Roy et al., 2018 ; **Chapitre I**). Par conséquent, des taux élevés de JH sont généralement associés positivement à la fertilité des femelles dans de nombreux taxa (Flatt & Kawecki, 2007 ; Tibbetts & Crocker, 2014). Chez les hyménoptères, la JH est impliquée dans la régulation du développement ovarien chez l’abeille *Megalopta genalis* (Smith et al., 2013), les guêpes polistines (Barth et al., 1975 ; Tibbetts & Izzo, 2009), les bourdons (Bloch et al., 2000a) et les abeilles halictines (Bell, 1973), mais pas chez l’abeille domestique *Apis mellifera* (revue dans Robinson, 1992 ; Robinson & Vargo, 1997).

Par ailleurs, nous savons que les ESH contrôlent également la reproduction des insectes (Nijhout, 1994 ; Elekonich & Robinson, 2000 ; Ringo, 2002). Par exemple chez les hyménoptères, les ESH sont associées à une activité reproductrice chez le bourdon *Bombus terrestris* (Bloch et al., 2000b ; Geva et al., 2005), l'abeille domestique *Apis mellifera* (Robinson et al., 1991), l'abeille *Melipona quadrifasciata* (Hartfelder et al., 2002), et une augmentation des niveaux de ESH après contact avec un hôte est corrélée à la maturation d'un œuf supplémentaire en moins de 24h chez *E. vuilleti* (Bodin et al., 2007, 2009 ; Casas et al., 2009).

Deuxièmement, nous avons constaté que les actions des deux familles d'hormones sur le comportement des femelles *E. vuilleti* lors des combats sont différentes mais semblent néanmoins complémentaires. D'une part, l'injection de JHIII favorise l'agressivité des femelles, sans pour autant augmenter la probabilité de gagner l'accès à l'hôte. D'autre part, des quantifications et des manipulations hormonales montrent, chez *E. vuilleti*, que les ESH ne semblent pas directement impliqués dans la médiation des comportements agressifs des femelles lors d'une compétition pour un hôte, mais module la probabilité de gagner un combat (e.g., en augmentant la motivation des femelles à exploiter l'hôte plus rapidement). Si les recherches sur la médiation hormonale du comportement représentaient déjà environ 200 espèces de vertébrés il y a une dizaine d'années (Hirschenhauser & Oliveira, 2006), il est encore trop tôt pour établir de grandes généralisations chez les insectes (environ 50 espèces étudiées). Néanmoins, il semblerait que la JH soit liée positivement à l'expression de comportements agressifs lors de compétition associée à la reproduction (Tibbetts & Crocker, 2014 ; **Chapitre 5**). Par exemple, des injections de JHIII maintiennent la posture agressive des mâles lors de combats intra-sexuels chez la blatte *Nauphoeta cinerea* (Kou et al., 2008). Parmi les espèces eusociales, la JH est associée à l'agressivité des individus chez la guêpe épiponine *Polybia micans* (Kelstrup et al. 2014a), chez les guêpes polistes (Röseler et al., 1980, 1984 ; Giray et al., 2005 ; Tibbetts & Huang, 2010 ; Tibbetts et al., 2013 ; Kelstrup et al., 2017 ; mais voir Kelstrup et al., 2015) et chez les abeilles domestiques (Sasagawa et al., 1989 ; Pearce et al., 2001). Cependant, une forte agressivité ne signifie pas nécessairement l'accès à la ressource disputée. Ainsi, Scott (2006b) a montré que l'application topique de méthoprène a augmenté le nombre de blessures résultant d'interactions agressives chez *Nicrophorus orbicollis* et *Nicrophorus tomentosus*, sans pour autant augmenter la probabilité que les individus gagnent un combat.

Concernant les relations entre taux d'ESH et comportements durant les conflits, il est encore plus difficile de savoir si ces résultats sont généralisables car à notre connaissance, seulement 10 espèces ont fait l'objet d'études sur le sujet, dont 9 sont des hyménoptères (**Chapitre 5**). Ainsi aucun lien entre taux d'ESH et agressivité n'a été observé chez les femelles des guêpes épiponines *S. surinama* et *P. mycans* (Kelstrup et al., 2014a, 2014b). De plus, des taux élevés d'ESH ont été retrouvés chez les ouvrières dominantes de différentes espèces eusociales, telles que le bourdon *B. terrestris* et la fourmi *S. peetersi* (Bloch et al., 2000b ; Geva et al., 2005 ; Brent et al., 2006 ; mais voir Kelstrup et al., 2015). Enfin, Röseler et al. (1984) ont constaté que l'injection de 20HE chez les femelles de la guêpe poliste *Polistes dominula*, seule ou associée à la JHI, augmentait la probabilité d'atteindre un statut de dominance.

Nos résultats constituent donc une étape importante dans la compréhension de la médiation hormonale du comportement des insectes en situation de compétition intraspécifique. De futures expériences seront cependant nécessaires pour déterminer réellement l'action relative et/ ou conjointe de ces deux familles d'hormones. En attendant de développer des outils de biologie moléculaire chez *E. vuilleti* pour être en mesure de manipuler directement le niveau d'expression des récepteurs aux hormones, il serait intéressant de tester l'effet de composés antagonistes à la JH et aux ESH. Des études ont montré

que la fluvastatine a une activité inhibitrice spécifique vis-à-vis de la biosynthèse de la JH par les CA chez le criquet migrateur *Locusta migratoria migratorioides* (Debernard et al., 1994) et chez le papillon *Agrotis ipsilon* (Duportets et al., 1998), tandis que la cucurbitacine agirait directement au niveau des récepteurs des ESH, bloquant ainsi leur activité (Dinan et al., 1997). Nous pourrions donc envisager d'injecter de la fluvastatine et/ou de la cucurbitacine dans des femelles *E. vuilleti* pour bloquer l'action de la JH et des ESH, et regarder l'effet des injections sur leur statut reproducteur et leurs comportements durant les combats pour l'accès à un hôte. Concernant la fertilité des femelles, nous nous attendrions à observer moins d'œufs matures chez des individus injectés avec de la fluvastatine ou avec de la cucurbitacine comparativement à des individus contrôles, et l'injection des deux molécules à la fois serait susceptible d'empêcher totalement la maturation des œufs, du fait qu'aucune des deux hormones (JH et ESH) ne pourrait compenser l'action de l'autre. Lors des combats, nous pourrions observer moins de comportements agressifs de la part de femelles injectées à la fluvastatine, sans pour autant diminuer leur chance de gagner, tandis que des femelles injectées à la cucurbitacine pourrait gagner moins fréquemment les combats, indépendamment de leur niveau d'agressivité. Enfin des femelles injectées avec les deux molécules devraient être moins agressives et avoir une plus faible probabilité de gagner les combats par rapport à des femelles contrôles.

Les amines biogènes en action

Si nous nous sommes concentrés au cours de ma thèse sur le rôle de la JH et des ESH dans la reproduction des femelles d'*E. vuilleti* et leur comportement en situation de compétition intraspécifique, d'autres médiateurs pourraient être impliqués dans les processus physiologiques et les stratégies comportementales des parasitoïdes lors des combats. Par exemple, les amines biogènes influencent différents processus physiologiques et comportementaux des invertébrés, en agissant en tant que neurotransmetteurs ou neuromodulateurs (i.e., relargués localement près de sites cibles ou dans le système nerveux central, mais généralement pas dans l'hémolymphe), ou bien en tant que neuro-hormones dans le système nerveux (Roeder, 2005 ; Farooqui, 2012 ; Gauthier & Grünewald, 2012).

Chez certains insectes, les amines biogènes comme l'octopamine (OA), la sérotonine (5-HT) et la dopamine (DA) sont impliquées dans la régulation de la reproduction des femelles, bien que leurs effets varient d'une espèce à l'autre (voir Bloch et al., 2009). Chez les insectes non-sociaux, des études ont par exemple mis en évidence la présence d'ovocytes anormaux chez des drosophiles DA-déficientes ainsi que chez des blattes *Periplaneta americana* traitées avec des antagonistes à la DA (Pendleton et al., 1996). Chez les insectes sociaux, Sasaki et al. (2007) ont montré que chez les ouvrières de la guêpe poliste *Polistes chinensis* présentant des ovaires développés avaient des taux significativement plus élevés de DA, et de 5-HT dans le cerveau, par rapport à des individus avec des ovaires non développés. Ces résultats sont cohérents avec les travaux réalisés chez les ouvrières du bourdon terrestre *Bombus terrestris* (Bloch et al., 2000c) et de l'abeille domestique *Apis mellifera* (Dombroski et al., 2003), ainsi que chez les gamergates de la fourmi *Harpegnathos saltator* (Penick et al., 2014). Chez les jeunes ouvrières mutilées de la fourmi *Diacamma sp.*, Okada et al. (2015) ont montré que l'application topique de DA avait des effets significatifs sur le développement des ovocytes, mais que l'OA n'avait pas d'effet. Au contraire, chez la fourmi sans reine *Streblognathus peteersi*, les femelles dominantes ont des taux d'OA plus élevés mais plus faibles de DA que les subordonnées, suggérant que seule l'OA favorise l'activité ovarienne (Cuvillier-Hot & Lenoir, 2006).

Des expériences *in vitro* ont montré, chez différentes espèces d'insectes, que les amines biogènes régulent la reproduction des individus en modulant les voies métaboliques de la JH et des ESH (notamment la 20HE). L'influence des amines biogènes sur les voies métaboliques des deux principales hormones gonadotropes a par exemple été montrée chez le grillon *Gryllus bimaculatus* (Woodring & Hoffmann, 1994), le bombyx du mûrier *Bombyx mori* (Hirashima et al., 1999a, 1999b), les blattes (Thompson et al., 1990) et l'abeille domestique *Apis mellifera* (Rachinsky, 1994). Dans une revue de la littérature, Gruntenko & Rauschenbach (2008) ont proposé un schéma résumant les interactions entre l'OA, la DA, la JH et la 20HE chez les drosophiles sexuellement matures (**Fig. 8.2**). Chez cette espèce, la DA et l'OA influencent toutes deux les taux de 20HE indirectement via le système métabolique de la JH, tandis que la 20HE régule indirectement les taux de JH via la DA : une augmentation des taux de 20HE diminue les taux de DA, entraînant ainsi une diminution de la dégradation de la JH (et donc une augmentation des taux de JH).

En plus de leur action sur le statut reproducteur des adultes, les amines biogènes modulent divers comportements des insectes tels que la locomotion, l'alimentation ou les comportements sexuels (e.g., Winberg & Nilsson, 1993 ; Melis & Argiolas, 1995 ; Menzel et al., 1996). Cependant, les amines biogènes semblent également jouer un rôle dans l'agressivité durant les conflits. Chez les espèces non-sociales, principalement chez le grillon et les drosophiles, des recherches utilisant des approches pharmacologiques et génétiques suggèrent que l'OA est impliquée dans l'escalade des comportements agressifs lors de combats entre congénères (Adamo et al., 1995 ; Stevenson et al., 2000, 2005 ; Hoyer et al., 2008 ; Zhou et al., 2008 ; Stevenson & Schildberger, 2013). Des études récentes utilisant des méthodes similaires pour modifier la 5-HT suggèrent que cette amine biogène pourrait également jouer un rôle important dans la modulation de l'agressivité chez ces espèces (Bubak et al., 2014), même si elle ne semble pas nécessaire au déclenchement des comportements agressifs (Dierick & Greenspan, 2007). Cela concorde avec les résultats de Bubak et al. (2014) chez la diopside *Teleopsis dalmanni* : une administration pharmacologique de 5-HTP (un précurseur de la 5-HT) augmente nettement la probabilité de gagner une compétition aggressive, ainsi que le nombre de comportements agressifs de forte intensité. Chez les insectes sociaux, Bloch et al. (2000c) ont découvert que les taux d'OA dans le cerveau des bourdons terrestres étaient les plus élevés chez les ouvrières les plus agressives. Chez les ouvrières de différentes espèces de fourmis, les amines biogènes du cerveau agissent également en tant que neuromodulateurs pour réguler l'agressivité (voir Kamhi & Traniellon, 2013 pour une revue de la littérature). Via des injections de 5-HT, de DA et d'OA, Szczuka et al. (2013) ont par exemple démontré les effets des amines biogènes sur l'agression intra et interspécifique chez les ouvrières de *Formica polyctena*. De plus, les reines agressives de la fourmi *Vollenhovia nipponica*, présentaient des taux élevés de 5-HT et de DA (Ohkawara & Aonuma, 2016), tandis que les taux de DA augmentaient chez les ouvrières agressives de la fourmi *Harpegnathos saltator*, lorsqu'elles commencent à se battre pour établir une nouvelle hiérarchie (Penick et al., 2014). Cependant, l'expression de récepteurs et l'application topique de DA et d'OA n'ont pas augmenté l'agressivité chez les ouvrières de *Diacamma sp* (Okada et al., 2015).

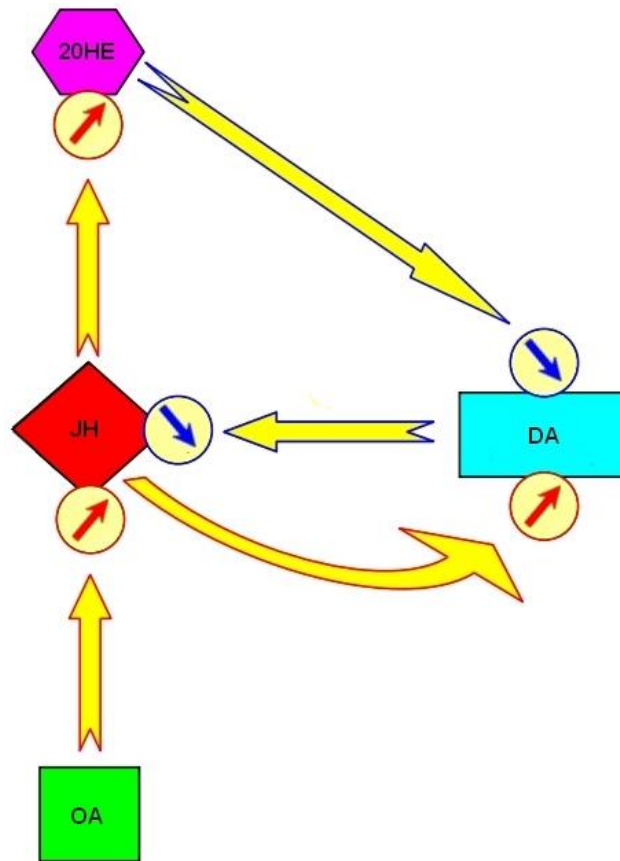


Figure 8.2. Schéma de l'interaction entre les hormones gonadotropes (JH et 20HE) et les amines biogènes (DA et OA) chez des femelles matures du genre *Drosophila* (modifié à partir de Gruntenko & Rauschenbach, 2008). Les flèches jaunes indiquent la direction de l'effet : contour bleu = inhibiteur, contour rouge = catalyseur. Les flèches dans les cercles indiquent les changements dans les taux hormonaux : rouge = augmentation, bleu = diminution. La DA diminue les taux de JH. Une augmentation des taux de JH entraîne une augmentation de la DA. L'OA augmente les taux de JH. La 20HE régule les taux de JH indirectement via le système métabolique de la DA : une augmentation des taux de 20HE diminue les taux de DA, entraînant ainsi une augmentation des taux de JH. La DA et l'OA influencent le niveau de 20HE indirectement via le système métabolique de la JH.

Au vu des différents résultats présentés ci-dessus, il paraît clair que les données empiriques concernant le rôle des amines biogènes dans la reproduction et les comportements agressifs des insectes sont encore à ce jour modèles-centrés (e.g., la drosophile). Un effort d'échantillonnage à plus large échelle est indispensable pour permettre des comparaisons plus fines et tenter d'établir des patterns généraux. Chez les hyménoptères par exemple, les expériences ne se sont concentrées que sur des espèces eusociales, et les résultats sont variables d'une espèce à l'autre. Explorer chez *Eupelmus vuilleti* la médiation des comportements par les amines biogènes au cours des conflits entre femelles contribuerait à enrichir notre compréhension du rôle de ces différents médiateurs et leur interconnexion sur le comportement des insectes.

L'hypothèse du challenge appliquée à *Eupelmus vuilleti*

L'hypothèse du challenge chez les insectes repose sur deux aspects clés de la fonction des androgènes chez les vertébrés (Tibbetts & Crocker, 2014 ; **Chapitre 5**) :

- ❖ Des taux élevés d'androgènes sont bénéfiques pendant les périodes de reproduction et / ou de compétition (Wingfield, 1991).
- ❖ Des taux élevés d'androgènes sont désavantageux dans d'autres contextes (e.g., la survie, les soins parentaux, l'immunité). Il n'est donc pas bénéfique d'avoir des taux élevés d'androgènes tout le temps (Adkins-Regan, 2005).

Il existe des études montrant que la JH influence les fonctions immunitaires chez de nombreux insectes (Rolff & Siva-Jothy, 2002 ; Rantala et al., 2003 ; Amdam et al., 2004 ; Flatt & Kawecki, 2007). Par exemple, des taux élevés de JH sont impliqués dans l'immunosuppression humorale chez les insectes (Hiruma & Riddiford, 1993). De plus, Contreras-Garduño et al. (2009) ont montré chez des mâles du calopteryx vierge, *Calopteryx virgo*, qu'un traitement avec du méthoprène augmentait leur agressivité et leur temps d'occupation sur les territoires mais réduisaient leur activité en phénoloxidase (une enzyme clé utilisée lors de la réponse immunitaire après une exposition à des bactéries ; Brey & Hultmark, 1998 ; Cerenius & Söderhäll, 2004) par rapport aux mâles témoins.

De précédents travaux ont également proposé que la JH stimule la reproduction au détriment de la durée de vie et de la survie (Tatar et al., 2001 ; Flatt et al., 2005 ; Flatt & Kawecki, 2007 ; Tu et al., 2006 ; mais voir Rantala et al., 2003). Des études sur le papillon monarque, *Danaus plexippus*, et sur la punaise du tilleul, *Pyrrhocoris apterus*, suggèrent que la JH est une hormone favorisant le vieillissement (Herman & Tatar, 2001 ; Zera & Harshman, 2001 ; Hodkova, 2008 ; Yamamoto et al., 2013). La suppression de la synthèse de JH prolonge également la longévité des drosophiles et des abeilles domestiques (Tatar et al., 2001 ; Flatt & Kawecki 2007 ; Flatt et al., 2008 ; Heinze & Schrempf, 2008 ; Toivonen & Partridge, 2009). De plus, Trumbo & Robinson (2004) ont émis l'hypothèse que la JH régule le trade-off entre la reproduction et la survie en situation de privation de nourriture chez les bousiers *Nicrophorus orbicollis*, *N. tomentosus* et *Ptomascopus morio*. Enfin, la JH réduit la survie des guêpes *Polistes dominula*, même si l'effet de la JH semble varier en fonction d'autres facteurs (e.g., le statut nutritionnel, la caste ; Tibbetts & Banan, 2010).

Concernent les coûts liés à des niveaux élevés d'ESH, les données se font beaucoup plus rares. Les seules études sur ce sujet concernent majoritairement l'effet des ESH sur la longévité de la drosophile, *Drosophila melanogaster* (Tatar et al., 2003 ; Tu et al., 2006 ; mais voir Flatt et al., 2008). Ces dernières suggèrent que la 20HE peut réduire la durée de vie en servant de signal hormonal pro-vieillessement ou en régulant la relation entre la reproduction et le vieillissement (Tatar et al., 2003). Par exemple, Harshman (1999) a trouvé de faibles taux d'ESH post-éclosion chez des drosophiles femelles sélectionnées pour avoir une durée de vie plus importante. De plus, Simon et al. (2003) ont montré que des drosophiles ayant une mutation du gène du récepteur de l'ecdysone (EcR) présentent une augmentation de leur durée de vie et une résistance au stress plus importante, sans pour autant observer une diminution de leur fertilité.

Nos expériences suggèrent, quant à elles, que la JH et les ESH sont bénéfiques à court terme pour les femelles d'*Eupelmus vuilleti* en situation de compétition intraspécifique, puisqu'elles favorisent la

maturation des œufs et leur capacité à se battre et à gagner l'accès à un hôte (**Chapitre 6 et 7**). Cependant, pour déterminer si l'action des hormones peut s'inscrire dans le cadre de l'hypothèse du challenge chez *E. vuilleti*, des expériences complémentaires testant les coûts potentiels associés à des taux élevés de JH et d'ecdysone (e.g., durée de vie, fonction immunitaires, activité métabolique) sont indispensables. Par exemple, une première méthode pour estimer la réponse immunitaire des insectes face à un agent pathogène est de compter leur charge en hémocytes (i.e., nombre total d'immunocytes dans l'hémolymph) comme analyse de l'immunité cellulaire (Fellowes & Godfray, 2000). Une autre méthode est de mesurer la réponse immunitaire humorale, que ce soit en termes d'activité en phénoloxidase (Brey, & Hultmark, 1998 ; Cerenius & Söderhäll, 2004), mais également en termes d'activité en lysozyme (une enzyme considérée comme étant importante dans la réponse contre une infection bactérienne ; Götz & Trenczek, 1991). Nous pourrions ainsi mesurer à différents temps la charge en hémocytes ainsi que l'activité en lysozymes et en phénoloxidase dans l'hémolymph de femelles *E. vuilleti* injectées avec de la JH et/ou de l'ecdysone, en les comparant à celles de femelles contrôles (Rolff & Siva-Jothy, 2002 ; Contreras-Garduño et al., 2009). Nous nous attendrions à observer une réponse immunitaire moins importante chez des femelles injectées avec les hormones (Hiruma & Riddiford, 1993). Par ailleurs, en se basant sur l'étude de Boisseau et al. (2017), il serait possible de tester l'effet des hormones sur l'activité métabolique des femelles d'*E. vuilleti* en mesurant les taux de production de CO₂ via un respiromètre. Si l'action de la JH et des ESH est coûteuse pour les parasitoïdes, les taux métaboliques devraient être plus élevés pour les femelles injectées avec des hormones par rapport à des femelles contrôles.

L'évolution de la médiation hormonale du comportement chez les hyménoptères

Chez les hyménoptères, si les relations entre hormones, statut reproducteur et comportement agonistiques ont été décrites majoritairement dans le cas d'espèces strictement eusociales (**Chapitre 5** ; mais voir Smith et al., 2013), étudier comment la JH et les ESH influencent le comportement lors de conflits associés à la reproduction chez *E. vuilleti*, un hyménoptère non-social strict, représente une première étape pour comprendre comment la médiation hormonale du comportement a évolué à travers les taxa avec différents degrés de socialité. Par exemple, si le rôle gonadotrope de la JH semble être une fonction ancestrale (Nijhout, 1994 ; Robinson & Vargo, 1997), comment son rôle de médiateur du comportement a évolué restent encore ouvert à débat. Jusqu'à présent, deux hypothèses principales ont été émises :

- ❖ La « novel ou single-function hypothesis » (Robinson, 1992 ; Robinson & Vargo, 1997 ; Agrahari & Gadagkar, 2003), qui propose que le rôle de la JH a changé d'une fonction exclusivement reproductive chez les espèces eusociales primitive (i.e., celles sans distinction morphologique entre la caste ouvrière et les reines) à une fonction exclusivement comportementale chez les espèces eusociales avancées (i.e., avec une différence morphologique entre castes)
- ❖ La « split-function hypothesis » (West-Eberhard, 1996), qui propose que la JH régule à la fois la reproduction et le comportement chez les espèces ancestrales non-sociales, mais que ces différentes actions ont été divisées entre les reines et les ouvrières chez les espèces avec un plus grand degré de socialité (i.e., régulation de la reproduction chez les reines et médiation du comportement chez les ouvrières).

De précédentes expériences ont apporté certains crédits à chacune de ces deux hypothèses (Agrahari & Gadagkar, 2003 ; Giray et al., 2005). Si plus de recherches chez des hyménoptères non-sociaux et/ou présociaux sont évidemment nécessaires pour permettre des études comparatives, nos résultats chez les femelles d'*E. vuilleti* sont davantage en accord avec la split-function hypothesis : la JH a une fonction à la fois sur la maturation des œufs (reproduction) et sur l'expression de comportements agressifs.

Par ailleurs, l'hypothèse du challenge a initialement été développée pour explorer comment les taux hormonaux varient durant une situation de compétition intraspécifique associée à la reproduction (Wingfield, 1984). En principe, cela suggère que des taux élevés d'hormones associés à des changements comportementaux des individus (e.g., augmentation de l'agressivité) en période de reproduction ont été co-optés : les niveaux d'hormones sont, quoiqu'il en soit, élevés du fait de leur action gonadotrope. Dans le cas d'un hyménoptère non-social tel qu'*E. vuilleti*, il est pertinent de penser que les actions des hormones sur la reproduction des femelles (maturation des œufs) et sur leurs comportements durant un conflit sont également étroitement liées. Cependant, l'hypothèse du challenge n'envisage pas les espèces eusociales arborant une division du travail dans laquelle la reproduction, le soin des jeunes et les comportements de défense sont exprimés par différents individus (ou à différentes périodes de leur vie). Cela implique peut-être de repenser l'hypothèse du challenge sous un autre angle pour intégrer correctement de tels organismes. Une solution consisterait à considérer plus largement le risque de conflits auquel les individus sont confrontés au cours de leur vie (en termes de durée et d'intensité) et qui pourrait influencer les coûts et les bénéfices liés à la réponse hormonale et les comportements agressifs associés. Dans ce contexte, les soldats pourraient, par exemple, avoir des taux hormonaux basaux élevés car ils rencontrent généralement plus de risques de challenges intraspécifiques, mais leurs taux hormonaux devraient moins varier en situation d'un challenge ponctuel. Au contraire, les nourrices devraient avoir des taux hormonaux basaux relativement bas avec une faible réponse face à un challenge ponctuel, car le risque de challenge est généralement faible. Enfin, les reines (en contrôlant pour le statut ovarien) devraient avoir des taux hormonaux plus élevés lors de la fondation de la colonie (période de compétition) que lorsqu'elles sont à la tête d'une colonie stable. Ces différents aspects nécessitent d'examiner la manière dont les taux de JH / ESH varient d'une caste à l'autre (reines *vs.* ouvrières) ou entre individus d'une même caste (e.g., nourrices *vs.* fourrageuses *vs.* soldats), et les différences de réponses hormonales entre individus lorsqu'ils sont en situation de challenge intraspécifique. Si l'hypothèse du challenge a été développée en premier lieu chez les vertébrés puis a ensuite été utilisée pour expliquer les patterns de variations hormonales chez les insectes, tester l'hypothèse du « risque de challenge » chez les insectes eusociaux permettrait de mieux comprendre (ou au moins de comparer) comment les hormones varient chez des espèces de vertébrés où certains individus n'ont pas accès à la reproduction (e.g., individus stériles chez le rat-taupe nu ; individus subordonnés dans les meutes de loups ; individus « helpers » chez les oiseaux).

Conclusion

En étudiant les facteurs qui influencent l'agressivité et l'issue des combats pour l'accès à un hôte chez les femelles d'*Eupelmus vuilleti*, les différents travaux réalisés au cours de cette thèse nous ont permis de mettre en évidence le rôle à la fois de la physiologie des individus (hormones), du degré d'apparentement (discrimination de parentèle) et de l'asymétrie entre les adversaires (valeur de la ressource) sur les comportements des insectes lors d'un conflit (Fig. 8.3). Nos résultats permettent ainsi d'approfondir et

d'élargir notre compréhension de l'évolution des stratégies comportementales adoptées par les animaux en situation de compétition intraspécifique. De futures études pourront explorer si i) les modèles d'évaluation (self- ou mutual assessment) utilisée par les individus peuvent se baser sur la RV subjective, ii) la communication chimique permet aux combattants d'identifier certains traits chez leur adversaire et d'ajuster leur comportement en conséquence, iii) les amines biogènes sont également impliquées dans la médiation du comportement.

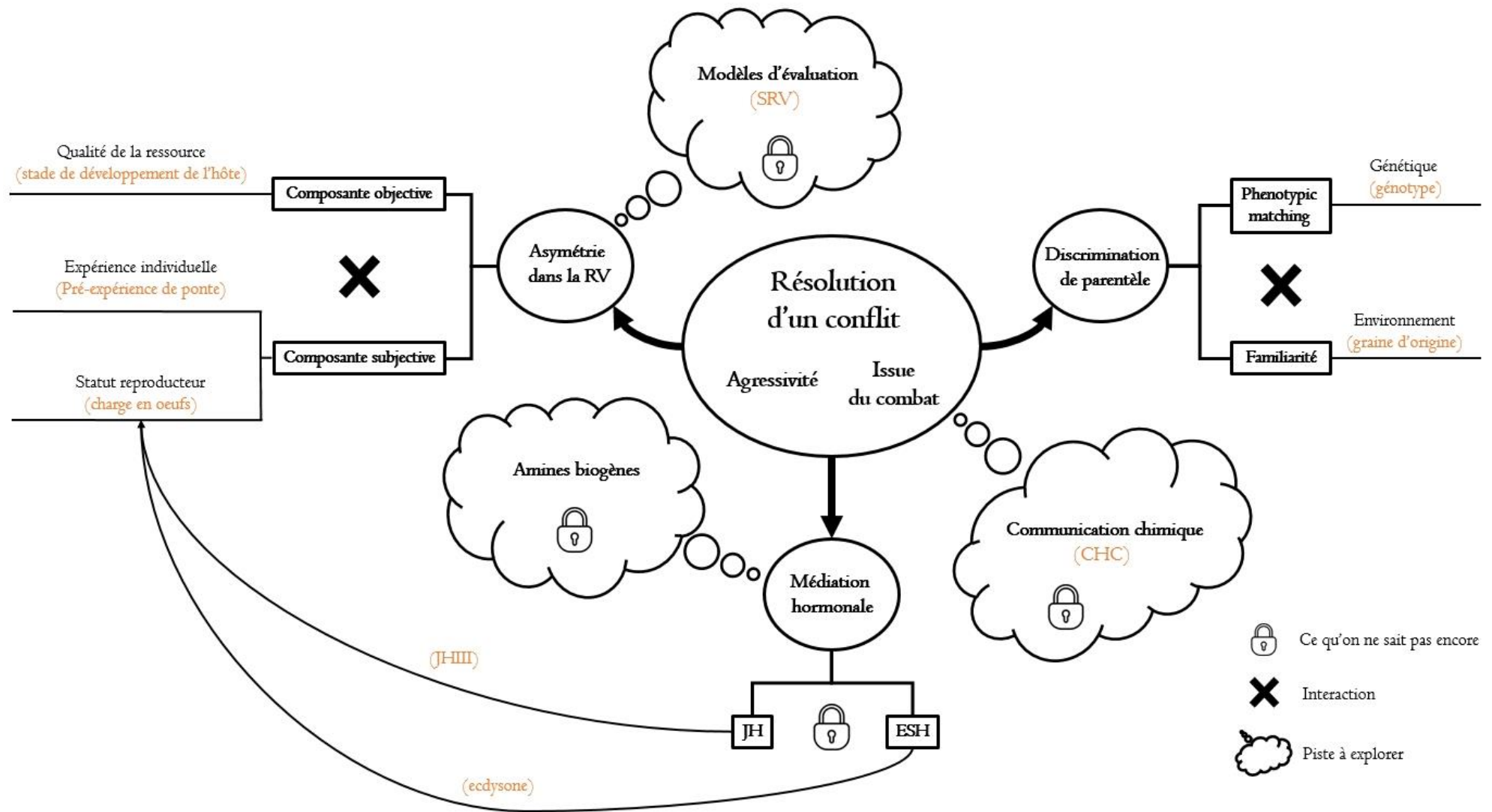


Figure 8.3. Carte heuristique montrant les interactions entre les différents facteurs qui influencent la résolution d'un conflit chez les insectes (Le texte en orange correspond à ce qui peut être appliqué aux conflits entre femelles chez *Eupelmus vuilleti*). Tout d'abord, l'agressivité et l'issue du combat lors d'un conflit peuvent être influencées par l'asymétrie entre les adversaires dans la valeur de la ressource (RV) : la composante objective de la RV dépend de la qualité de la ressource, tandis que la composante subjective peut dépendre de l'expérience ou du statut reproducteur des individus. Deuxièmement la discrimination de parentèle peut modifier les stratégies comportementales des combattants, notamment via le phenotypic matching basé sur la détection d'indices phénotypiques codés génétiquement et/ou via la familiarité basée sur la détection d'indices phénotypiques liés à l'environnement. Pour finir, la médiation hormonale des comportements opère notamment grâce à l'action de l'hormone juvénile (JH) et des ecdystéroïdes (ESH) qui ont également un rôle sur le statut reproducteur des individus. Cependant, les effets relatifs et conjoints de ces deux familles d'hormones restent encore à être déterminés. De futures études seront par ailleurs nécessaires pour explorer si i) le mode d'évaluation utilisée par les individus est du self- ou du mutual assessment, ii) la communication chimique permet aux combattants d'identifier certains traits chez leur adversaire, iii) les amines biogènes sont impliquées dans la médiation du comportement.

Bibliographie

A

- Abe, J., Kamimura, Y., Ito, H., Matsuda, H., & Shimada, M. 2003. Local mate competition with lethal male combat: effects of competitive asymmetry and information availability on a sex ratio game. *J. Evol. Biol.* 16(4), 607-613.
- Adamo, S.A., Linn, C.E. & Hoy, R.R. 1995. The role of neurohormonal octopamine during 'fight or flight' behaviour in the field cricket *Gryllus bimaculatus*. *J. Exp. Biol.* 198(8), 1691-1700.
- Adamo, S.A., Schildberger, K., & Loher, W. 1994. The role of the corpora allata in the adult male cricket (*Gryllus campestris* and *Gryllus bimaculatus*) in the development and expression of its agonistic behaviour. *J. Insect Physiol.* 40, 439-446. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(94\)90162-7](https://doi.org/10.1016/0022-1910(94)90162-7)
- Adkins-Regan, E., 1999. Testosterone increases singing and aggression but not male-typical sexual partner preference in early estrogen treated female zebrafinches. *Horm. Behav.* 35, 63-70. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1998.1497>
- Adkins-Regan, E., 2005. Hormones and Animal Social Behavior. Princeton University Press, Princeton.
- Agrahari, M., Gadagkar, R., 2003. Juvenile hormone accelerates ovarian development and does not affect age polyethism in the primitively eusocial wasp, *Ropalidia marginata*. *J. Insect Physiol.* 49, 217-222. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(02\)00268-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(02)00268-8)
- Alzouma, I. 1987. Reproduction et développement de *Bruchidius atrolineatus* pic (Coleoptera : Bruchidae) aux dépens des cultures de *Vigna unguiculata* L. Walp (Leguminosae : Papilionacea) dans un agrosystème sahélien au Niger (Doctoral dissertation, Thesis, University of Tours).
- Amdam, G.V., Simões, Z.L., Hagen, A., Norberg, K., Schröder, K., Mikkelsen, Ø., Kirkwood, T.B., & Omholt, S.W. 2004. Hormonal control of the yolk precursor vitellogenin regulates immune function and longevity in honeybees. *Exp. Gerontol.* 39(5), 767-773.
- Amevoin, K., Glitho, I.A., Nuto, Y. & Monge, J.P. 2006. Dynamique des populations naturelles de bruches et de leurs parasitoïdes nympholavophages en situation expérimentale de stockage du niébé en zone guinéenne. *Tropicultura.* 24(1), 45-50.
- Amsalem, E., Teal, P., Grozinger, C.M., & Hefetz, A. 2014a. Precocene-I inhibits juvenile hormone biosynthesis, ovarian activation, aggression and alters sterility signal production in bumble bee (*Bombus terrestris*) workers. *J. Exp. Biol.* 217, 3178-3185. <https://doi.org/10.1242/jeb.107250>
- Amsalem, E., Malka, O., Grozinger, C., & Hefetz, A. 2014b. Exploring the role of juvenile hormone and vitellogenin in reproduction and social behavior in bumble bees. *BMC Evol. Biol.* 14, 45. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-14-45>
- Andersson, M., & Iwasa, Y. 1996. Sexual selection. *Trends Ecol. Evol.* 11, 53-58.

- Anton, S., & Gadenne, C. 1999. Effect of juvenile hormone on the central nervous processing of sex pheromone in an insect. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96(10), 5764-5767.
- Apfelbeck, B., & Goymann, W. 2011. Ignoring the challenge? Male black redstarts (*Phoenicurus ochruros*) do not increase testosterone levels during territorial conflicts but they do so in response to gonadotropin-releasing hormone. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 278, 3233–3242
- Arakawa, R. 1987. Attack on the parasitized host by a primary solitary parasitoid, *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae): The second female pierces, with her ovipositor, the egg laid by the first one. *J. Appl. Entomol. Z.* 22(4), pp.644-645.
- Archer, J. 1988. *The behavioural biology of aggression*. Cambridge (UK): Cambridge University Press.
- Archer, J. (2006). Testosterone and human aggression: an evaluation of the challenge hypothesis. *Neurosci. Biobehav. R.* 30(3), 319-345.
- Archer, J., & Thanzami, V. 2007. The relation between physical aggression, size and strength, among a sample of young Indian men. *Pers. Individ. Dif.* 43, 627–633.
- Arnold, M.T., & Regnier, F.E. 1975. Stimulation of hydrocarbon biosynthesis by ecdysterone in the flesh fly *Sarcophaga bullata*. *J. Insect Physiol.* 21(9), 1581-1586.
- Arnold, G., Quenet, B., Cornuet, J. M., Masson, C., De Schepper, B., Estoup, A., & Gasqui, P. 1996. Kin recognition in honeybees. *Nature.* 379(6565), 498.
- Arnott, G., & Elwood, R.W. 2008. Information gathering and decision making about resource value in animal contests. *Anim. Behav.* 76, 529–542.
- Arnott, G., & Elwood, R.W. 2009. Assessment of fighting ability in animal contests. *Anim. Behav.* 77, 991–1004.
- Askew, R.R. 1971. Parasitic Hymenoptera, 113-184. In: *Parasitic Insects*. Heinemann Educational Book Ltd. (Ed.) London. pp. 316.
- Askew, R.R., & Shaw, M.R. 1986. Parasitoid communities: their size, structure and development. Waage, J., & Greathead, D., (eds), *Insect Parasitoids*, 13th Symposium of Royal Entomological Society of London. pp. 225-264. ISSN: 0080-4363.
- Ayasse, M., Marlovits, T., Tengö, J., Taghizadeh, T., & Francke, W. 1995. Are there pheromonal dominance signals in the bumblebee *Bombus hypnorum* L (Hymenoptera, Apidae)? *Apidologie.* 26(3), 163-180.

B

- Barth, R.H., Lester, L.J., Sroka, P., Kessler, T., Hearn, R., 1975. Juvenile hormone promotes dominance behavior and ovarian development in social wasps (*Polistes annularis*). *Experientia.* 31, 691–692. <https://doi.org/10.1007/BF01944632>
- Barton, R.A., 1993. Sociospatial mechanisms of feeding competition in female olive baboons, *Papio anubis*. *Anim. Behav.* 46, 791–802.
- Batchelor, T.P., Hardy, I.C.W., Barrera, J.F., Pérez-Lachaud, G. 2005. Insect gladiators II: competitive interactions within and between bethylid parasitoid species of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Biol. Control.* 33, 194–202.
- Beckage, N.E., & Riddiford, L.M. 1982. Effects of methoprene and juvenile hormone on larval ecdysis, emergence,

- and metamorphosis of the endoparasitic wasp, *Apanteles congregatus*. J. Insect Physiol. 28(4), 329–334.
- Beckage, N.E., & Templeton, T.J. 1986. Physiological effects of parasitism by *Apanteles congregatus* in terminalstage tobacco hornworm larvae. J. Insect Physiol. 32(4), 299–314.
- Bell, W.J. 1973. Factors controlling initiation of vitellogenesis in a primitively social bee, *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Halictidae). Insectes Soc. 20, 253–260. <https://doi.org/10.1007/BF02223194>
- Bentley, T., Hull, T.T., Hardy, I.C.W., & Goubault, M. 2009. The elusive paradox: owner-intruder roles, strategies, and outcomes in parasitoid contests. Behav. Ecol. 20(2), 296–304.
- Bergin, T. 2007. Influence of juvenile hormone on territorial and aggressive behavior in the Painted Lady (*Vanessa cardui*) and Eastern Black Swallowtail (*Papilio polyxenes*). Honors Theses. Paper 29.
- Beroza, M., & Menn, J.J. 1972. Insect juvenile hormones: chemistry and action. Academic Press.
- Beydon, P., Lafont, R. 1983. Feedback inhibition of ecdysone production by 20-hydroxyecdysone in *Pieris brassicae* pupae. J. Insect Physiol. 29(6), 529–533. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(83\)90084-7](https://doi.org/10.1016/0022-1910(83)90084-7)
- Blaustein, A.R. 1983. Kin recognition mechanisms: phenotypic matching or recognition alleles?. Am. Nat. 121(5), 749–754.
- Blaustein, A.R., Waldman, B. 1992. Kin recognition in anuran amphibians. Anim. Behav. 44, 207–221. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(92\)90027-7](https://doi.org/10.1016/0003-3472(92)90027-7)
- Bloch, G., Borst, D.W., Huang, Z., Robinson, G.E., Cnaani, J., & Hefetz, A. 2000a. Juvenile hormone titers, juvenile hormone biosynthesis, ovarian development and social environment in *Bombus terrestris*. J. Insect Physiol. 46, 47–57.
- Bloch, G., Hefetz, A., & Hartfelder, K. 2000b. Ecdysteroid titer, ovary status, and dominance in adult worker and queen bumble bees (*Bombus terrestris*). J. Insect Physiol. 46(6), 1033–1040. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(99\)00214-0](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(99)00214-0)
- Bloch, G., Shpigler, H., Wheeler, D.E., Robinson, G.E. 2009. Endocrine influences on the organization of insect societies. In S.E.F. and R.T.R. Donald W. Pfaff, Arthur P. Arnold, Anne M. Etgen (Ed.), Hormones, Brain and Behavior (pp. 1027–1068). San Diego. <https://doi.org/10.1016/b978-012532104-4/50042-1>
- Blomquist, G.J., Bagnères, A.-G. 2010. Insect hydrocarbons: Biology, biochemistry, and chemical ecology. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511711909>
- Bodin, A., Jaloux, B., Delbecque, J.-P., Vannier, F., Monge, J.-P., & Mondy, N. 2009. Reproduction in a variable environment: How does *Eupelmus vuilleti*, a parasitoid wasp, adjust oogenesis to host availability? J. Insect Physiol. 55(7), 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.04.003>
- Bodin, A., Jaloux, B., Mandon, N., Vannier, F., Delbecque, J.-P., Monge, J.-P., & Mondy, N. 2007. Host-induced ecdysteroids in the stop-and-go oogenesis in a synovigenic parasitoid wasp. Arch. Insect Biochem. Physiol., 65, 103–111. <https://doi.org/10.1002/arch>
- Boisseau, R.P., Woods, H.A., & Goubault, M. 2017. The metabolic costs offighting and host exploitation in a seed-drilling parasitic wasp. J. Exp. Biol. 220, 3955–3966. <https://doi.org/10.1242/jeb.160887>
- Boivin, G. 1996. Evolution et diversité des insectes parasitoïdes. Antennae. 3, 6–12.
- Bonavita-Cougourdan, A., Theraulaz, G., Bagnères, A.-G., Roux, M., Pratte, M., Provost, E., & Clément, J.L. 1991. Cuticular hydrocarbons, social organization and ovarian development in a polistine wasp: *Polistes dominulus* Christ. Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 100(4), 667–680.

- Bourdais, D., & Hance, T. 2009. Lack of behavioural evidence for kin avoidance in mate choice in a hymenopteran parasitoid (Hymenoptera: Braconidae). *Behav. Processes.* 81(1), 92–94. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2009.02.015>
- Breed, M.D. 1983. Correlations between aggressiveness and corpora allata volume, social isolation, age and dietary protein in worker honeybees. *Insectes Soc.* 30, 482–495. <https://doi.org/10.1007/BF02223979>
- Breed, M.D., & Bell, W.J. 1983. Hormonal influences on invertebrate aggressive behavior. In: Svare, B.B. (Ed.), *Hormones and Aggressive Behavior*. Plenum Press, New York, NY, pp. 577–590.
- Brent, C., Peeters, C., Dietmann, V., Crewe, R., & Vargo, E. 2006. Hormonal correlates of reproductive status in the queenless ponerine ant *Streblognathus peetersi*. *J. Comp. Physiol. A.* 192, 315–320. <https://doi.org/10.1007/s00359-005-0065-6>
- Brey, P.T., & Hultmark, D. 1998. *Molecular mechanisms of immune responses in insects*. Chapman & Hall Ltd.
- Bridwell, J.C. 1929. The Cowpea Bruchid (Coleoptera) under another Name.-A Plea for one Kind of Entomological Specialist. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 31(2).
- Briffa, M., & Elwood, R.W. 2002. Power of shell-rapping signals influences physiological costs and subsequent decisions during hermit crab fights. *Proc. R. Soc. B.* 269(1507), 2331–2336.
- Briffa, M., Hardy, I.C.W., Gammell, M.P., Jennings, D.J., Clarke, D.D., & Goubault, M. 2013. Analysis of animal contest data. In: Hardy, I.C.W., Briffa, M. (Eds.), *Animal Contests*. Cambridge University Press, pp. 47–85.
- Brown, W.D., Chimenti, A.J., & Siebert, J.R. 2007. The payoff of fighting in house crickets: motivational asymmetry increases male aggression and mating success. *Ethology.* 113, 457–465
- Brown, W.D., Smith, A.T., Moskalik, B., Gabriel, J., 2006. Aggressive contests in house crickets: size, motivation and the information content of aggressive songs. *Anim. Behav.* 72, 225–233.
- Bubak, A.N., Grace, J.L., Watt, M.J., Renner, K.J., & Swallow, J.G. 2014. Neurochemistry as a bridge between morphology and behavior: perspectives on aggression in insects. *Curr. Zool.* 60(6), pp.778–790.
- Buck, C.L., & Barnes, B.M. 2003. Androgen in free-living arctic ground squirrels: seasonal changes and influence of staged male-male aggressive encounters. *Horm. Behav.* 43, 318–326

C

- Casas, J., Vannier, F., Mandon, N., Delbecque, J.-P., Giron, D., & Monge, J.-P. 2009. Mitigation of egg limitation in parasitoids: immediate hormonal response and enhanced after host use. *Ecology.* 90(2), 537–545. <https://doi.org/10.1890/08-0507.1>
- Cebolla, R., Bru, P., Urbaneja, A., & Tena, A. 2017. Does host quality dictate the outcome of interference competition between sympatric parasitoids? Effects on their coexistence. *Anim. Behav.* 127, 75–81.
- Cerenius, L. & Söderhäll, K. 2004. The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological reviews.* 198(1), pp.116–126.
- Chancellor, R.L., & Isbell, L.A. 2008. Punishment and competition over food in captive rhesus macaques, *Macaca mulatta*. *Anim. Behav.* 75, 1939–1947.
- Chapman, M.R., Kramer, D.L. 1996. Guarded resources: the effect of intruder number on the tactics and success of defenders and intruders. *Anim. Behav.* 52, 83–94.

- Chapman, R.F. 1998. The Insects. Structure and Function. Cambridge University Press, Cambridge, MA.
- Charnov, E.L., & Skinner, S.W. 1985. Complementary approaches to the understanding of parasitoid oviposition decisions. *Environ. Entomol.* 14, 383–391.
- Chase, I.D. 1974. Models of hierarchy formation in animals societies. *Behav. Sci.* 19, 374–382.
- Chau, A., & Mackauer, M., 2001. Preference of the aphid parasitoid *Monoctonus paulensis* (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) for different aphid species: females choice and offspring survival. *Biol. Control.* 20, 30–38.
- Chen, Y., Chen, S., Chang, H., Sun, G., & Kou, R. 2005. Effect of exogenous juvenile hormone III and precocene II on agonistic behavior and the corpora allata in vitro activity in the male lobster cockroach *Nauphoeta cinerea* (Dictyoptera: Blaberidae, Oxyhaloinae). *Zool. Stud.* 44, 409–416.
- Chou, S.Y., Huang, Z.Y., Chen, S.C., Yang, R.L., & Kou, R. 2007. Antenna contact and agonism in the male lobster cockroach, *Nauphoeta cinerea*. *Horm. Behav.* 52, 252–260. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.04.013>
- Chow, H.F.J., & Mackauer, M. 1984. Inter- and intraspecific larval competition in *Aphidius smithi* and *Praon pequodorum* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Can. Entomol.* 116: 1097–1107.
- Cissé, N., & Hall, A.E. 2001. La culture traditionnelle du niébé au Sénégal, étude de cas. ISRA/CNRA BP, 53, pp.92521-0124.
- Clausen, C.P. 1940. Entomophagous insects. McGraw Hill, New York.
- Collias, N.E., 1944. Aggressive behavior among vertebrate animals. *Physiol. Zool.* 17, 83–123. <https://doi.org/10.1086/physzool.17.1.30151832>
- Contreras-Garduño, J., Córdoba-Aguilar, A., Lanz-Mendoza, H., & Cordero Rivera, A. 2009. Territorial behaviour and immunity are mediated by juvenile hormone: the physiological basis of honest signalling? *Funct. Ecol.* 23, 157–163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01485.x>
- Cooper, R.L., & Ruffner, M.E. 1998. Depression of synaptic efficacy at intermolt in crayfish neuromuscular junctions by 20-hydroxyecdysone, a molting hormone. *J. Neurophysiol.* 79(4), 1931–1941.
- Corona, M., Velarde, R.A., Remolina, S., Moran-Lauter, A., Wang, Y., Hughes, K.A., & Robinson, G.E. 2007. Vitellogenin, juvenile hormone, insulin signaling, and queen honey bee longevity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 7128–7133.
- Cortesero, A.M. 1994. La recherche de l'hôte chez *Eupelmus vuilleti* (CRW): analyse des relations tritrophiques entre la plante (*Vigna unguiculata walp*), l'hôte (*Bruchidius atrolineatus pic*) et le parasitoïde (Doctoral dissertation, Thesis, University of Tours).
- Cortesero, A.M., Monge, J.-P., & Huignard, J. 1997. Dispersal and parasitizing abilities of *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera: Eupelmidae) within a column of cowpea seeds. *Environ. Entomol.* 26(5), 1025–1030.
- Crawford, J.C. 1913. Descriptions of new Hymenoptera, no. 6. *Proc. U. S. N. M.* 45, 241.
- Crook, T.C., Flatt, T., & Smiseth, P.T. 2008. Hormonal modulation of larval begging and growth in the burying beetle *Nicrophorus vespilloides*. *Anim. Behav.* 75(1), 71–77.
- Cuvillier-Hot, V., Cobb, M., Malosse, C., & Peeters, C. 2001. Sex, age and ovarian activity affect cuticular hydrocarbons in *Diacamma ceylonense*, a queenless ant. *J. Insect Physiol.* 47(4-5), 485–493.

- Cuvillier-Hot, V., & Lenoir, A. 2006. Biogenic amine levels, reproduction and social dominance in the queenless ant *Streblognathus peetersi*. *Naturwissenschaften*. 93(3), 149-153.
- Cuvillier-Hot, V., Lenoir, & A., Peeters, C. 2004. Reproductive monopoly enforced by sterile police workers in a queenless ant. *Behav. Ecol.* 15, 970–975. <https://doi.org/10.1093/beheco/arh072>

D

- Damiens, D., Imbert, E., Bressac, C., Thiabeau, C., I Chevrier, C. 2001. Egg-laying, pre-imaginal growth dynamics, and mortality in *Eupelmus orientalis* and *Dinarmus basalis*, two solitary ectoparasitoids of *Callosobruchus maculatus*. *Entomol. Exp. Appl.* 99(1), 97–105. <https://doi.org/10.1023/A:1018954320519>
- Darrouzet, E., Bignon, L., & Chevrier, C. 2007. Impact of mating status on egg-laying and superparasitism behaviour in a parasitoid wasp. *Entomol. Exp. et Appl.* 123(3), 279-285.
- Darrouzet, E., Boivin, G., & Chevrier, C. 2008. Sex allocation decision under superparasitism by the parasitoid wasp *Eupelmus vuillei*. *Journal of insect behavior*. 21(3), 181.
- Darrouzet, E., Lebreton, S., Gouix, N., Wipf, A., & Bagnères, A.-G. 2010. Parasitoids modify their oviposition behaviour according to the sexual origin of conspecific cuticular hydrocarbon traces. *J. Chem. Ecol.* 36(10), 1092-1100. <https://doi.org/10.1007/s10886-010-9845-8>
- Davies, N.B. 1978. Territorial defence in the speckled wood butterfly (*Pararge aegeria*): The resident always wins. *Anim. Behav.* 26, 138-147.
- Dawkins, R. 1976. *The Selfish Gene*.
- De Loof, A.D., Loon, J.V., & Vanderroost, C. 1979. Influence of ecdysterone, precocene and compounds with juvenile hormone activity on induction, termination and maintenance of diapause in the parasitoid wasp, *Nasonia vitripennis*. *Physiol. Entomol.* 4(4), 319-328.
- De Reggi, M., Pitoizet, N., Gharib, B., & Delbecque, J.-P. 1992. New enzyme immunoassays for ecdysteroids using peroxidase as enzyme and polyclonal or monoclonal antibodies. In: Abstract of the Xth Ecdysone Workshop, p. 91
- de Renobales, M., Nelson, D.R., & Blomquist, G.J. 1991. Cuticular lipids. In: Binnington, K., Retnakaran, A. (Eds.), *Physiology of the Insect Epidermis*. CSIRO Publications, Melbourne, pp. 240–251
- Debernard, S., Rossignol, F., & Couillaud, F. 1994. The HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin inhibits insect juvenile hormone biosynthesis. *Gen. Comp. Endocr.* 95(1), 92-98.
- Delanoue, P., & Arambourg, Y. 1965. Contribution à l'étude en laboratoire d'*Eupelmus urozonus* Dalm. (Hym. Chalcidoidea Eupelmidae). *Ann. Soc. Entomol. France*. 1, 817-842.
- Delbecque, J.-P., Weidner, K., & Hoffmann, K.H. 1990. Alternative sites for ecdysteroid production in insects. *Invertebr. Reprod. Dev.* 18(1-2), 29-42.
- Díaz-Uriarte, R. 1999. Anti-predator behaviour changes following an aggressive encounter in the lizard *Tropidurus hispidus*. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 266, 2457–2464. <https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0946>
- Dierick, H.A., & Greenspan, R.J. 2007. Serotonin and neuropeptide F have opposite modulatory effects on fly aggression. *Nat. Genet.* 39(5), 678.

- Dinan, L., Whiting, P., Girault, J.P., Lafont, R., Dhadialla, S.T., Cress, E.D., Mugat, B., Antoniewski, C., & Lepesant, J.A. 1997. Cucurbitacins are insect steroid hormone antagonists acting at the ecdysteroid receptor. *Biochem. J.* 327(3), 643-650.
- Dissanayake, A., Galloway, T.S., & Jones, M.B. 2009. Physiological condition and intraspecific agonistic behaviour in *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 375, 57-63.
- Dombroski, T.C.D., Simões, Z.L.P., & Bitondi, M.M.G. 2003. Dietary dopamine causes ovary activation in queenless *Apis mellifera* workers. *Apidologie.* 34(3), pp.281-289.
- Donly, B.C., Ding, Q., Tobe, S.S., & Bendena, W.G. 1993. Molecular cloning of the gene for the allatostatin family of neuropeptides from the cockroach *Diploptera punctata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90(19), 8807-8811.
- Doury, G. 1995. L'installation du parasitisme chez un hyménoptère ectoparasitoïde solitaire, *Eupelmus orientalis* (CRW)(Eupelmidae): Aspects comportementaux, physiologiques, et moléculaires (Doctoral dissertation, Thesis, University of Tours).
- Doutt, R.L. 1964. Biological characteristics of entomophagous adults. In: Biological control of insect pests and weeds. Debach, D., Chapman, R.F., & Hate L.I.D., (Ed.), pp. 145-167
- Dronnet, S., Lohou, C., Christides, J.P., & Bagnères, A.-G., 2006. Cuticular hydrocarbon composition reflects genetic relationship among colonies of the introduced termite *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *J. Chem. Ecol.* 32(5), p.1027.
- Dumser, J.B. 1980. The regulation of spermatogenesis in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 25(1), 341-369.
- Dunn, O.J. 1961. Multiple comparisons among means. *J. Am. Stat. Assoc.* 56(293), 52-64.
- Duportets, L., Dufour, M.C., Couillaud, F., & Gadenne, C. 1998. Biosynthetic activity of corpora allata, growth of sex accessory glands and mating in the male moth *Agrotis ipsilon* (Hufnagel). *J. Exp. Biol.* 201(16), 2425-2432.

E

- Elekonich, M.M., Robinson, G.E., 2000. Organizational and activational effects of hormones on insect behavior. *J. Insect Physiol.* 46, 1509-1515.
- Eggleton, P., & Gaston, K.J. 1990. "Parasitoid" species and assemblages: convenient definitions or misleading compromises? *Oikos.* 59, 417-421
- Elekonich, M.M., & Robinson, G.E. 2000. Organizational and activational effects of hormones on insect behavior. *J. Insect Physiol.* 46, 1509-1515.
- Elias, D.O., Kasumovic, M.M., Punzalan, D., Andrade, M.C.B., & Mason, A.C., 2008. Assessment during aggressive contests between male jumping spiders. *Anim. Behav.* 76, 901-910.
- Elwood, R.W., Pothanikat, R.M.E., & Briffa, M. 2006. Honest and dishonest displays, motivational state and subsequent decisions in hermit crab shell fights. *Anim. Behav.* 72, 853-859.
- Elwood, R.W., & Arnott, G. 2012. Understanding how animals fight with Lloyd Morgan's canon. *Anim Behav.* 84(5), 1095-1102.

- Emlen, D.J., & Nijhout, H.F. 2000. The development and evolution of exaggerated morphologies in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 661–708. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152640>
- Enquist, M., & Leimar, O. 1987. Evolution of fighting behaviour: The effect of variation in resource value. *J. Theor. Biol.* 127, 187–205. [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(87\)80130-3](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(87)80130-3)
- Enquist, M., & Leimar, O. 1990. The evolution of fatal fighting. *Anim. Behav.* 39:1–9.
- Enquist, M., Leimar, O., Ljungberg, T., Mallner, Y., & Segerdahl, N. 1990. A test of the sequential assessment game: fighting in the cichlid fish *Nannacara anomala*. *Anim. Behav.* 40(1), 1–14.
- Ewald, P.W. 1985. Influence of asymmetries in resource quality and age on aggression and dominance in black-chinned hummingbirds. *Anim Behav.* 33, 705–719.

F

- F.A.O. 2006. Atelier sous régional sur la gestion intégrée durable en agriculture des espèces du genre *Striga*. In: <http://www.fao.org/agriculture/crops/corethemes/theme/biodiversity/weeds/issues/stri/en/>
- Farooqui, T. 2012. Review of octopamine in insect nervous systems. Open access J. Insect Physiol. 4, 1.
- Feldlaufer, M.F., Svoboda, J.A., & Herbert, E.W.J. 1986. Makisterone A and 24-methylenecholesterol from the ovaries of the honey bee, *Apis mellifera*. *Experientia.* 42, 200–201.
- Fellowes, M.D.E. 1998. Do non-social insects get the (kin) recognition they deserve? *Ecol. Entomol.* 23(2), 223–227. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.1998.00128.x>
- Fellowes, M.D.E., & Godfray, H.C.J. 2000. The evolutionary ecology of resistance to parasitoids by *Drosophila*. *Heredity.* 84(1), 1.
- Ferracini, C., Boivin, G., & Alma, A. 2006. Costs and benefits of host feeding in the parasitoid wasp *Trichogramma turkestanica*. *Entomol. Exp. Appl.* 121, 229–234.
- Festa-Bianchet, M., Apollonio, M., Mari, F., & Rasola, G. 1990. Aggression among Lekking Male Fallow Deer (*Dama dama*): territory effects and relationship with copulatory success. *Ethology.* 85, 236–246
- Festucci-Buselli, R.A., Contim, L.A.S., Barbosa, L.C.A., Stuart, J., & Otoni, W.C. 2008. Biosynthesis and potential functions of the ecdysteroid 20-hydroxyecdysone — a review. *Botany.* 86(9), 978–987. <https://doi.org/10.1139/B08-049>
- Field, S.A., & Calbert, G., 1999. Don't count your eggs before they're parasitized: contest resolution and the trade-offs during patch defense in a parasitoid wasp. *Behav. Ecol.* 10, 122–127. <https://doi.org/10.1093/beheco/10.2.122>
- Field, S.A., Calbert, G., & Keller, M.A. 1998. Patch defence in the parasitoid wasp *Trissolcus basalis* (Insecta: Scelionidae): the time structure of pairwise contests, and the "waiting game". *Ethology.* 104, 821–840.
- Fisher, R.C. 1961. A study in insect multiparasitism. I. Host selection and oviposition. *J. Exp. Biol.* 38(3), 267–275.

- Flatt, T., Heyland, A., Rus, F., Porpiglia, E., Sherlock, C., Yamamoto, R., Garbuzov, A., Palli, S.R., Tatar, M., & Silverman, N. 2008. Hormonal regulation of the humoral innate immune response in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Biol.* 211(16), 2712-2724.
- Flatt, T., & Kawecki, T.J. 2007. Juvenile hormone as a regulator of the trade-off between reproduction and life span in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*. 61, 1980–1991.
- Flatt, T., Tu, M. P., & Tatar, M. 2005. Hormonal pleiotropy and the juvenile hormone regulation of *Drosophila* development and life history. *Bioessays*. 27(10), 999-1010.
- Fletcher, D.J., & Michener, C.D. 1987. Kin recognition in animals. John Wiley & Sons.
- Fournier, D., De Biseau, J.C., De Laet, S., Lenoir, A., Passera, L., & Aron, S., 2016. Social structure and genetic distance mediate nestmate recognition and aggressiveness in the facultative polygynous ant *Pheidole pallidula*. *PLoS One*. 11(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156440>
- Fox, J., & Weisberg, S. 2019. An R companion to applied regression (3rd ed.). New York, NY: Sage
- Fuxjager, M.J., & Marler, C.A. 2010. How and why the winner effect forms: influences of contest environment and species differences. *Behav. Ecol.* 21, 37–45

G

- Gadagkar, R. 1985. Kin recognition in social insects and other animals-A review of recent findings and a consideration of their relevance for the theory of kin selection. *Proc. Indian Acad. Sci. Anim. Sci.* 94(6), 587–621. <https://doi.org/10.1007/bf03191863>
- Gadenne, C., & Anton, S. 2000. Central processing of sex pheromone stimuli is differentially regulated by juvenile hormone in a male moth. *J. Insect Physiol.* 46(8), 1195-1206.
- Gallant, D., Bérubé, C.H., Tremblay, E., & Vasseur, L. 2004. An extensive study of the foraging ecology of beavers (*Castor canadensis*) in relation to habitat quality. *Can. J. Zool.* 82, 922–933.
- Gamboa, G.J. 2004. Kin recognition in eusocial wasps. In: *Annales Zoologici Fennici* (pp. 789-808). Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- Gardner, A., & West, S.A. 2004. Spite and the scale of competition. *J. Evol. Biol.* 17(6), 1195-1203.
- Gardner, A., West, S.A., & Barton, N.H. 2007. The relation between multilocus population genetics and social evolution theory. *Am. Nat.* 169, 207–226
- Gardner, A., & West, S.A. 2010. Greenbeards. *Evolution*. 64(1), 25–38. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00842.x>
- Gauthier, N., 1996. Étude d'un ectoparasitoïde solitaire *Dinarmus basalis* Rond (Hym. Pteromalidae) en situation de compétition intra-et interspécifique: activité reproductrice et réponses comportementales (Doctoral dissertation, Thesis, University of Tours).

- Gauthier, N., & Monge, J.-P. 1999. Could the egg itself be the source of the oviposition deterrent marker in the ectoparasitoid *Dinarmus basalis*? J. Insect Physiol. 45, 393–400. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(98\)00138-3](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(98)00138-3)
- Gauthier, M., & Grünewald, B. 2012. Neurotransmitter systems in the honey bee brain: functions in learning and memory. In: Honeybee neurobiology and behavior (pp. 155-169). Springer, Dordrecht.
- Germain, J.F. 1988. La diapause imaginale chez *Bruchidus atrolineatus* (Pic) en zone soudano-sahélienne. (Doctoral dissertation, Thesis, University of Tours).
- Geva, S., Hartfelder, K., & Bloch, G. 2005. Reproductive division of labor, dominance, and ecdysteroid levels in hemolymph and ovary of the bumble bee *Bombus terrestris*. J. Insect Physiol. 51(7), 811–823. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.03.009>
- Gherardi, F. 2006. Fighting behavior in hermit crabs: the combined effect of resource-holding potential and resource value in *Pagurus longicarpus*. Behav. Ecol. Sociobiol. 59, 500–510.
- Gilbert, L.I. 2004. Halloween genes encode P450 enzymes that mediate steroid hormone biosynthesis in *Drosophila melanogaster*. Mol. Cell. Endocrinol. 215(1-2), 1-10.
- Gilbert, L.I., Rybczynski, R., & Warren, J.T. 2002. Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. Annu. Rev. Entomol. 47(1), 883-916.
- Gilbert, L.I., & Warren, J.T. 2005. A molecular genetic approach to the biosynthesis of the insect steroid molting hormone. Vitam. Horm. 73, 31-57.
- Gilley, D.C. 2001. The behaviour of honey bees (*Apis mellifera ligustica*) during queen duels. Ethology. 107, 601–622.
- Giray, T., Giovanetti, M., & West-Eberhard, M.J. 2005. Juvenile hormone, reproduction, and worker behavior in the neotropical social wasp *Polistes canadensis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 102, 3330–3335. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409560102>
- Giron, D., Dunn, D.D., Hardy, I.C.W., & Strand, M.R. 2004. Aggression by polyembryonic wasp soldiers correlates with kinship but not resource competition. Nature. 430, 676–679. <https://doi.org/10.1038/nature02631.1>
- Giron, D., Rivero, A., Mandon, N., Darrouzet, E., & Casas, J. 2002. The physiology of host feeding in parasitic wasps: implications for survival. Funct. Ecol. 16, 750–757.
- Gleason, E.D., Fuxjager, M.J., Oyegbile, T.O., & Marler, C.A. 2009. Testosterone release and social context: when it occurs and why. Front. Neuroendocrinol. 30, 460–469.
- Godfray, H.C.J. 1994. Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton (NJ): Princeton University Press.
- Gomez-Alvarez, L.E. 1980. Etudes de quelques aspects de la biologie d'un Chalcidien *Dinarmus basalis* nécessaires à l'étude du taux sexuel (Doctoral dissertation, Thesis, University of Tours).
- Goodman, W.G., & Granger, N.A. 2005. "The juvenile hormones". In: Comprehensive Molecular Insect Science, Gilbert, L.I., Iatrou, K., & Gill, S.S., Eds., 6, 320–408. Elsevier, Oxford, UK.

- Götz, P., & Trenczek, T. 1991. Antibacterial proteins in insects other than Lepidoptera and Diptera and in some other invertebrates. *Immunology of insects and other arthropods*, 323-346.
- Goubault, M., Batchelor, T.P., Linforth, R.S.T., Taylor, A.J., & Hardy, I.C.W. 2006. Volatile emission by contest losers revealed by real-time chemical analysis. *Proc. Royal Society B: Biological Sciences*. 273, 2853-2859.
- Goubault, M., & Decuignière, M., 2012. Previous experience and contest outcome: Winner effects persist in absence of evident loser effects in a parasitoid wasp. *Am. Nat.* 180(3), 364–371. <https://doi.org/10.1086/667192>
- Goubault, M., Cortesero, A.-M., Poinso, D., Wajnberg, E., & Boivin, G. 2007a. Does host value influence female aggressiveness, contest outcome and fitness gain in parasitoids? *Ethology*. 113(4), 334–343. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2006.01325.x>
- Goubault, M., Scott, D., & Hardy, I.C.W. 2007b. The importance of offspring value: maternal defence in parasitoid contests. *Anim Behav.* 74(3), 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2006.11.029>
- Goymann, W. 2009. Social modulation of androgens in male birds. *Gen. Comp. Endocr.* 163(1-2), 149-157.
- Goymann, W., Landys, M.M., & Wingfield, J.C. 2007. Distinguishing seasonal androgen responses from male-male androgen responsiveness-revisiting the challenge hypothesis. *Horm. Behav.* 51, 463–476.
- Grieneisen, M.L. 1994. Recent advances in our knowledge of ecdysteroid biosynthesis in insects and crustaceans. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24(2), 115-132.
- Griffin, A., & West, S., 2002. Kin selection: Fact and fiction. *Trends Ecol. Evol.* 17(1), 15–21
- Griffiths, N., & Godfray, H.J.C. 1988. Local mate competition, sex ratio and clutch size in bethylid wasps. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 22, 211-217.
- Grossniklaus-Bürgin, C., & Lanzrein, B. 1990. Endocrine interrelationship between the parasitoid *Chelonus sp.* and its host *Trichoplusia ni*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 14(4), 201-216.
- Gruetzmacher, M.C., Gilbert, L.I., Granger, N.A., Goodman, W., & Bollenbacher, W.E. 1984. The effect of juvenile hormone on prothoracic gland function during the larval-pupal development of *Manduca sexta*: An in situ and in vitro analysis. *J. Insect Physiol.* 30(4), 331-340.
- Gruntenko, N.E., & Rauschenbach, I.Y. 2008. Interplay of JH, 20E and biogenic amines under normal and stress conditions and its effect on reproduction. *J. Insect Physiol.* 54(6), 902-908.

H

- Hack, M.A. 1997. Assessment strategies in the contests of male crickets, *Acheta domesticus* (L.). *Anim Behav.* 53, 733–747. <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0310>
- Hagedorn, H.H. 1985. The role of ecdysteroids in reproduction. In: Kerkut, L.A., Gilbert, L.I. (Eds.). *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, vol. 8. Pergamon Press, Oxford, pp. 205–262.

- Hamilton, W.D., 1964. The genetical evolution of social behaviour. I. J. Theor. Biol. 7(1), 1–16.
[https://doi.org/10.1016/0022-5193\(64\)90038-4](https://doi.org/10.1016/0022-5193(64)90038-4)
- Hamilton, W.D. 1979. Wingless and fighting males in fig wasps and other insects. In: Sexual selection and reproductive competition in insects (ed. MS Blum & NA Blum), pp. 167–220. Academic Press, New York
- Hamilton, M.B. 2009. Population genetics. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21290736>
- Hamilton, W.J., & Busse, C. 1982. Social dominance and predatory behaviour of chacma baboons. J. Hum. Evol. 11, 567–573.
- Hamilton, W.D., & May, R.M. 1977. Dispersal in stable habitats. Nature. 269, 578–581.
<https://doi.org/10.1038/269578a0>
- Hammerstein, P. 1981. The role of asymmetries in animal contests. Anim. Behav. 29, 193–205.
[https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(81\)80166-2](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(81)80166-2)
- Hardy, I.C.W., & Blackburn, T.M. 1991. Brood guarding in a bethylid wasp. Ecol. Entomol. 16:55–62.
- Hardy, I.C.W., & Briffa, M. 2013. Animal contests. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- Harshman, L.G. 1999. Investigation of the endocrine system in extended longevity lines of *Drosophila melanogaster*. Exp. Gerontol. 34(8), 997–1006.
- Hartfelder, K. 2000. Insect juvenile hormone: from “status quo” to high society. Braz. J. Med. Biol. Res. 33, 157–177. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2000000200003>
- Hartfelder, K., & Emlen, D.J. 2012. Endocrine control of insect polyphenism. In: Insect endocrinology (pp. 464–522). Academic Press.
- Hartfelder, K. & Engels, W. 1998. 2 Social Insect Polymorphism: Hormonal Regulation of Plasticity in Development and Reproduction in the Honeybee. In: Current topics in developmental biology (Vol. 40, pp. 45–77). Academic Press.
- Hartfelder, K., Bitondi, M.M.G., Santana, W.C., & Simões, Z.L.P. 2002. Ecdysteroid titer and reproduction in queens and workers of the honey bee and of a stingless bee: loss of ecdysteroid function at increasing levels of sociality? Insect Biochem. Mol. Biol. 32, 211–216.
- Hartley, C.S., & Matthews, R.W. 2003. The effect of body size on male- male combat in the parasitoid wasp *Melittobia digitata* Dahms (Hymenoptera: Eulophidae). J. Hymenopt. Res. 12, 272–277. Retrieved from <http://biostor.org/reference/311>
- Harvey, J.A., Poelman, E.H., & Tanaka, T. 2013. Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. Annu. Rev. Entomol. 58, 333–351.
- Hassell, M.P. 1971. Mutual interference between searching insect parasites. J. Anim. Ecol. 40, 473–486.
- Hau, M. 2007. Regulation of male traits by testosterone: implications for the evolution of vertebrate life histories. Bioessays. 29, 133–144.

- Hau, M., & Goymann, W. 2015. Endocrine mechanisms, behavioral phenotypes and plasticity: known relationships and open questions. *Front. Zool.* 12(1), S7.
- Heimpel, G.E., & Rosenheim, J.A. 1995. Dynamic host feeding by the parasitoid *Aphytis melinus* - the balance between current and future reproduction. *J. Anim. Ecol.* 64, 153–167.
- Heinz, K.M., & Parrella, M.P. 1989. Attack behavior and host size selection by *Diglyphus begini* on *Liriomyza trifolii* in chrysanthemum. *Entomol. Exp. Appl.* 53, 147–156.
- Heinze, J., & Schrempf, A. 2008. Aging and reproduction in social insects—a mini-review. *Gerontology.* 54(3), 160–167.
- Henry, L.M., Gillespie, D.R., Roitberg, B.D., 2005. Does mother really know best? Oviposition preference reduces reproductive performance in the generalist parasitoid *Aphidius ervi*. *Entomol. Exp. Appl.* 116, 167–174.
- Heraty J., 2009. Parasitoid biodiversity and insect pest management. In: Footitt, R.G. & Adler, P.H. (eds.) *Insect Biodiversity: Science and Society*. Wiley-Blackwell, Chichester, UK, 445–462.
- Herman, W.S., & Tatar, M. 2001. Juvenile hormone regulation of longevity in the migratory monarch butterfly. *Proc. R. Soc. B.* 268(1485), 2509–2514.
- Heth, G., Todrank, J., & Johnston, R.E. 1998. Kin recognition in golden hamsters: Evidence for phenotype matching. *Anim. Behav.* 56(2), 409–417. <https://doi.org/10.1006/anbe.1998.0747>
- Hirashima, A., Hirokado, S., Ohta, H., Suetsugu, E., Sakaguchi, M., Kuwano, E., Taniguchi, E., & Eto, M. 1999a. Titres of biogenic amines and ecdysteroids: effect of octopamine on the production of ecdysteroids in the silkworm *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 45(9), 843–851.
- Hirashima, A., Suetsugu, E., Hirokado, S., Kuwano, E., Taniguchi, E. & Eto, M., 1999b. Effect of octopamine on the activity of juvenile-hormone esterase in the silkworm *Bombyx mori* and the red flour beetle *Tribolium freemani*. *Gen. Comp. Endocr.* 116(3), 373–381.
- Hirschenhauser, K., & Oliveira, R.F. 2006. Social modulation of androgens in male vertebrates: meta-analyses of the challenge hypothesis. *Anim. Behav.* 71, 265–277.
- Hirschenhauser, K., Taborsky, M., Oliveira, T., Canario, A.V.M., & Oliveira, R.F. 2004. A test of the 'challenge hypothesis' in cichlid fish: simulated partner and territory intruder experiments. *Anim. Behav.* 68, 741–750.
- Hirschenhauser, K., Winkler, H., & Oliveira, R.F. 2003. Comparative analysis of male androgen responsiveness to social environment in birds: the effects of mating system and paternal incubation. *Horm. Behav.* 43, 508–519.
- Hirschenhauser, K., Wittek, M., Johnston, P., & Moestl, E. 2008. Social context rather than behavioral output or winning modulates post-conflict testosterone responses in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Physiol. Behav.* 95, 457–463.
- Hiruma, K., & Riddiford, L.M. 1993. Molecular mechanisms of cuticular melanization in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (L.)(Lepidoptera: Sphingidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 22(2–4), 103–117.
- Hodkova, M. 2008. Tissue signaling pathways in the regulation of life-span and reproduction in females of the linden bug, *Pyrrhocoris apterus*. *J. Insect Physiol.* 54(2), 508–517.

- Hoffmeister, H., and Grützmaker, H.F. 1966. Zur chemie desecdysterons. *Tetrahedron Lett.* 33, 4017–4023.
- Höller, C., Williams, H.J., & Vinson, S.B. 1991. Evidence for a two-component external marking pheromone system in an aphid hyperparasitoid. *J. Chem. Ecol.* 17(6), 1021–1035. <https://doi.org/10.1007/BF01402931>
- Honěk, A. 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. *Oikos.* 66, 483–492.
- Horn, D.H.S., Middleton, E.J., Wunderlich, J.A., & Hampshire, F. 1966. Identity of the moulting hormones of insects and crustaceans. *Chem. Commun.* 339–340.
- Howard, R.W., & Blomquist, G.J. 2005. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.* 50, 371–393.
- Howard, R.W. 2001. Cuticular hydrocarbons of adult *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae) and two larval hosts, angoumois grain moth (Lepidoptera: Gelechiidae) and cowpea weevil (Coleoptera: Bruchidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 94(1), 152–158. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2001\)094\[0152:CHOAPC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2001)094[0152:CHOAPC]2.0.CO;2)
- Hoyer, S.C., Eckart, A., Herrel, A., Zars, T., Fischer, S.A., Hardie, S.L., & Heisenberg, M. 2008. Octopamine in male aggression of *Drosophila*. *Curr. Biol.* 18(3), 159–167.
- Hsu, Y., Earley, R.L., & Wolf, L.L. 2006. Modulation of aggressive behaviour by fighting experience: Mechanisms and contest outcomes. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 81(1), 33–74. <https://doi.org/10.1017/S146479310500686X>
- Hsu, Y., Lee, S.P., Chen, M.H., Yang, S.Y., & Cheng, K.C. 2008. Switching assessment strategy during a contest: Fighting in killifish *Kryptolebias marmoratus*. *Anim. Behav.* 75(5), 1641–1649. <http://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.10.017>
- Hughes, J.P., Harvey, I.F., & Hubbard, S.F. 1994. Host-searching behavior of *Venturia canescens* (Grav.) (Hymenoptera: Ichneumonidae): interference-the effect of mature egg load and prior behavior. *J. Insect Behav.* 7(4), 433–454. <https://doi.org/10.1007/BF02025442>
- Huignard, J. 1996. Biological control of bruchid insect pest of cowpea in west Africa. Rapport final contrat CEE (1993–1996), Université de Tours, Tours (France).
- Humphries, E.L., Hebblethwaite, A.J., Batchelor, T.P., & Hardy, I.C.W. 2006. The importance of valuing resources: host weight and contender age as determinants of parasitoid wasp contest outcomes. *Anim. Behav.* 72(4), 891–898. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2006.02.015>
- Huntingford, F.A., & Turner, A.K. 1987. *Animal Conflict*. New York: Chapman & Hall.
- Huntingford, F.A., Turner, A.K. 1987. *Animal conflict*. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Hurd, P.L. 2006. Resource holding potential, subjective resource value, and game theoretical models of aggressiveness signalling. *J. Theor. Biol.* 241, 639–648.

I

- Innocent, T.M., Savage, J., West, S.A., & Reece, S.E. 2007. Lethal combat and sex ratio evolution in a parasitoid wasp. *Behav. Ecol.* 18(4), 709-715.
- Innocent, T.M., West, S.A., Sanderson, J.L., Hyrkkänen, N., & Reece, S.E. 2011. Lethal combat over limited resources: testing the importance of competitors and kin. *Behav. Ecol.* 22, 923–931. <https://doi.org/10.1093/beheco/arg209>
- Izzo, A., Wells, M., Huang, Z., & Tibbetts, E. 2010. Cuticular hydrocarbons correlate with fertility, not dominance, in a paper wasp, *Polistes dominulus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 64, 857–864

J

- Jackai, L.E.N., Daoust, R.A. 1986. Insect pests of cowpea. *Annu. Rev. Entomol.* 31, 95-119.
- Jakobsson, S., Brick, O., & Kullberg, C. 1995. Escalated fighting behaviour incurs increased predation risk. *Anim. Behav.* 49, 235–239. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(95\)80172-3](https://doi.org/10.1016/0003-3472(95)80172-3)
- Jaloux, B. 2004. La discrimination interspécifique par *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera : Eupelmidae) des hôtes parasités par *Dinarmus basalis* (Hymenoptera : Pteromalidae) (Doctoral dissertation, University of Tours, Tours).
- Jaloux, B., Sanon, A., Huignard, J., & Monge, J.-P. 2004. Interspecific relationships between the solitary ectoparasitoid, *Eupelmus vuilleti* (Crw.) (Eupelmidae), and its sympatric species, *Dinarmus basalis* (Rond.) (Pteromalidae), in the presence of their host, *Callosobruchus maculatus* pic (Coleoptera: Bruchidae). *J. Insect Behav.* 17, 793–808. <https://doi.org/10.1023/B:JOIR.0000048989.36181.4d>
- Jandt, J.M., Tibbetts, E.A., & Toth, A.L. 2014. *Polistes* paper wasps: a model genus for the study of social dominance hierarchies. *Insect. Soc.* 61, 11–27.
- Jennings, D.J., Gammell, M.P., Carlin, C.M., & Hayden, T.J. 2004. Effect of body weight, antler length, resource value and experience on fight duration and intensity in fallow deer. *Anim. Behav.* 68, 213-221.
- Jervis, M.A., & Kidd, N.A.C. 1986. Host feeding strategies in hymenoteran parasitoids. *Biol. Rev.* 61, 395–434
- Jervis, M.A., Ellers, J., & Harvey, J.A. 2008. Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. *Annu. Rev. of Entomol.* 53(1), 361–385. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.53.103106.093433>
- Jervis, M.A., Heimpel, G.E., Ferns, P.N., Harvey, J.A., & Kidd, N.A. 2001. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of ‘ovigeny’. *J. Anim. Ecol.* 70(3), 442-458.
- Jindra, M., Palli, S.R., & Riddiford, L.M. 2013. The Juvenile Hormone signaling pathway in insect development. In: Berenbaum, M.R. (Ed.). *Annu. Rev. of Entomol.* 58. pp. 181–204.

K

- Kamhi, J.F., & Traniello, J.F. 2013. Biogenic amines and collective organization in a superorganism: neuromodulation of social behavior in ants. *Brain Behav. Evol.* 82(4), 220-236.
- Kang, J.K., Pittendrigh, B.R., & Onstad, D.W. 2013. Insect resistance management for stored product pests: a case study of cowpea weevil (Coleoptera: Bruchidae). *J. Econ. Entomol.* 106(6), 2473-2490.
- Kapranas, A., Maher, A.M.D., & Griffin, C.T. 2016. Higher relatedness mitigates mortality in a nematode with lethal male fighting. *J. Evol. Biol.* 29(2), 344–351. <https://doi.org/10.1111/jeb.12786>
- Kelstrup, H.C., Hartfelder, K., Esterhuizen, N., & Wossler, T.C. 2017. Juvenile hormone titers, ovarian status and epicuticular hydrocarbons in gynes and workers of the paper wasp *Belonogaster longitarsus*. *J. Insect Physiol.* 98, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.014>
- Kelstrup, H.C., Hartfelder, K., Nascimento, F.S., & Riddiford, L.M. 2014a. Reproductive status, endocrine physiology and chemical signaling in the Neotropical, swarmfounding eusocial wasp *Polybia micans*. *J. Exp. Biol.* 217, 2399–2410. <https://doi.org/10.1242/jeb.096750>
- Kelstrup, H.C., Hartfelder, K., Nascimento, F.S., & Riddiford, L.M. 2014b. The role of juvenile hormone in dominance behavior, reproduction and cuticular pheromone signaling in the caste-flexible epiponine wasp, *Synoecca surinama*. *Front. Zool.* 11, 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12983-014-0078-5>
- Kelstrup, H.C., Hartfelder, K., & Wossler, T.C. 2015. *Polistes smithii* vs. *Polistes dominula*: the contrasting endocrinology and epicuticular signaling of sympatric paper wasps in the field. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 69, 2043–2058. <https://doi.org/10.1007/s00265-015-2015-9>
- Ketterson, E.D., & Nolan, V. 1999. Adaptation, exaptation, and constraint: a hormonal perspective. *Am. Nat.* 154, S4–S25.
- Kidd, N.A.C., & Jervis, M.A. 1991. Host-feeding and oviposition strategies of parasitoids in relation to host stage. *Res. Popul. Ecol.* 33, 13–28.
- Klowden, M. 2002. *Physiological Systems in Insects*. Academic Press, Amsterdam.
- Koepppe, J.K., Fuchs, M., Chen, T.T., Hunt, L.M., & Kovalick, G.E. 1985. The role of juvenile hormone in reproduction. In: *Comprehensive Insect Physiology. Biochemistry and Pharmacology*. Kerkut, G.A., & Gilbert, L.I. (eds). Oxford: Pergamon Press.
- Kokko, H. 2013. Dyadic contests: modelling fights between two individuals. In: Hardy, I.C.W., Briffa, M., editors. *Animal contests*. Cambridge (UK): Cambridge University Press. p. 5–32.
- Kokko, H., López-Sepulcre, A., & Morrell, L.J. 2006. From hawks and doves to self-consistent games of territorial behavior. *Am. Nat.* 167, 901-91
- Kou, R., & Hsu, C.-C. 2013. Mating enhances the probability of winning aggressive encounters in male lobster cockroaches. *Horm. Behav.* 64, 546–556. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2013.07.007>

- Kou, R., Chang, H.W., Huang, Z.Y., Yang, R.L., 2008a. Pheromone, juvenile hormone, and social status in the male lobster cockroach *Nauphoeta cinerea*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 68, 144–155. <https://doi.org/10.1002/arch.20241>
 - Kou, R., Chou, S.Y., Huang, Z.Y., Yang, R.L., 2008b. Juvenile hormone levels are increased in winners of cockroach fights. Horm. Behav. 54, 521–527. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.05.011>
 - Kou, R., Chou, S.Y., Chen, S.-C., Huang, Z.Y., 2009. Juvenile hormone and the ontogeny of cockroach aggression. Horm. Behav. 56, 332–338.
 - Kou, R., Hsu, C.-C., Chen, S.-C., Chang, P.-Y., & Fang, S. 2019. Winner and loser effects in lobster cockroach contests for social dominance. Horm. Behav. 107, 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.12.002>
 - Krebs, J.R., & Davies, N.B. 1993. Economic decisions and the individual. An introduction to behavioural ecology. 48-76.
 - Kühbandner, S., Hacker, K., Niedermayer, S., Steidle, J.L.M., & Ruther, J. 2012. Composition of cuticular lipids in the pteromalid wasp *Lariophagus distinguendus* is host dependent. Bull. Entomol. Res. 102(5), 610–617. <http://doi.org/10.1017/S000748531200017X>
- ## L
- Lacoume, S., Bressac, C., & Chevrier, C. 2006. Effect of host size on male fitness in the parasitoid wasp *Dinarmus basalis*. J. Insect. Physiol. 52, 249–254.
 - LaFont, R. 1995. Comparative studies on ecdysteroids. Rec. Adv. Insect Biochem. Mol. Biol.
 - LaFont, R. 2000. The endocrinology of invertebrates. Ecotoxicology. 9(1-2), 41-57.
 - LaFont, R., Harmatha, J., Marion-Poll, F., Dinan, L., & Wilson, I.D. 2002. Ecdybase—The Ecdysone Handbook, (continuously updated). Cybersales, Praha, from <http://ecdibase.org>
 - Larrère, M., & Couillaud, F. 1993. Role of juvenile hormone biosynthesis in dominance status and reproduction of the bumblebee, *Bombus terrestris*. Behav. Ecol. Sociobiol. 33, 335–338.
 - Lawrence, P.O. 1990. The biochemical and physiological effects of insect hosts on the development and ecology of their insect parasites: an overview. Arch. Insect. Biochem. Physiol. 13, 217–228.
 - Lee, S., & Kim, Y. 2004. Juvenile hormone esterase of diamondback moth, *Plutella xylostella*, and parasitism of *Cotesia plutellae*. J. Asia-Pac. Entomol. 7(3), 283-287.
 - Leimar, O., & Enquist, M. 1984. Effects of asymmetries in owner-intruder conflicts. J. Theor. Biol. 111, 475-491
 - Lengyel, F., Westerlund, S.A., & Kaib, M. 2007. Juvenile hormone III influences task-specific cuticular hydrocarbon profile changes in the ant *Myrmica eumenoides*. J. Chem. Ecol. 33, 167–181. <https://doi.org/10.1007/s10886-006-9185-x>
 - Leveque, L., Monge, J.-P., Rojas-Rousse, D., Vanalebeek, F., & Huignard, J. 1993. Analysis of multiparasitism by *Eupelmus vuillei* (Craw) (Eupelmidae) and *Dinarmus basalis* (Rond) (Pteromalidae) in the presence of one

- of their common hosts, *Bruchidius atrolineatus* (Pic) (Coleoptera Bruchidae). *Oecologia*. 94, 272–277.
- Liang, D., & Silverman, J. 2000. “You are what you eat”: diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften*. 87(9), 412–416.
- Liebig, J., Monnin, T., & Turillazzi, S. 2005. Direct assessment of queen quality and lack of worker suppression in a paper wasp. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 272, 1339–1344.
- Liebig, J., Peeters, C., Oldham, N. J., Markstädter, C., & Hölldobler, B. 2000. Are variations in cuticular hydrocarbons of queens and workers a reliable signal of fertility in the ant *Harpegnathos saltator*? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97(8), 4124–4131.
- Lihoreau, M., Rivault, C., & Van Zweden, J.S. 2016. Kin discrimination increases with odor distance in the German cockroach. *Behav. Ecol.*
- Lindström, K. 1992. The effect of resource holding potential, nest size and information about resource quality on the outcome of intruder-owner conflicts in the sand goby. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 30, 53–58.
- Lion, S., & Baalen, M.V. 2008. Self-structuring in spatial evolutionary ecology. *Ecol. Lett.* 11(3), 277–295.
- Liu, Y., Henderson, G., Mao, L., & Laine, R. 2005. Seasonal variation of juvenile hormone titers of the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus* (Rhinotermitidae). *Environ. Entomol.* 34, 557–562. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-34.3.557>
- Lizé, A., Khidr, S.K., & Hardy, I.C.W. 2012. Two components of kin recognition influence parasitoid aggression in resource competition. *Anim. Behav.* 83(3), 793–799. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2012.01.001>
- Lockey, K.H. 1988. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 89(4), 595–645.
- Lorenzi, M.C.L., Bagnères, A.-G., & Clément, J.L. 1996. The role of cuticular hydrocarbons in social insects: Is it the same in paper wasps? In: Turillazzi, S., & West-Eberhard, M., (Eds.), *Natural history and evolution of paper wasps* (pp. 178–189). Oxford, U.K.: Oxford University Press.

M

- Mackauer, M. 1990. Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. In: *Critical issues in biological control*. Mackauer, M., Ehler, L.E., & Roland, J., (Ed). Intercept, Andover, U. K. pp. 41–62
- Makka, T., Seino, A., Tomita, S., Fujiwara, H., & Sonobe, H. 2002. A possible role of 20-hydroxyecdysone in embryonic development of the silkworm *Bombyx mori*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*: Published in: Collaboration with the Entomological Society of America. 51(3), 111–120.
- Mangel, M., & Roitberg, B.D. 1989. Dynamic information and host acceptance by a tephritid fruit fly. *Ecol. Entomol.* 14, 181–189.
- Marden, J.H., & Waage, J.K. 1990. Escalated damselfly territorial contests are energetic wars of attrition. *Anim. Behav.* 39(5), 954–959.

- Mateo, J.M. 2004. Recognition systems and biological organization: the perception component of social recognition. In: *Annales Zoologici Fennici* (pp. 729-745). Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- Mathiron, A.G.E., Mondy, N., Earley, R.L., & Goubault, M. Ecdysteroids affect female reproductive status and outcome of contest over host in a solitary parasitoid wasp, in prep.
- Mathiron, A.G.E., Pottier, P., & Goubault, M. 2018a. Let the most motivated win: Resource value components affect contest outcome in a parasitoid wasp. *Behav. Ecol.* 29(5), 1088-1095. <https://doi.org/10.1093/beheco/ary084>
- Mathiron, A.G.E., Pottier, P., & Goubault, M. 2018b. Data from: let the most motivated win: resource value components affect contest outcome in a parasitoid wasp. Dryad Digital Repository. <https://doi.org/10.5061/dryad.r0d1j88>
- Mathiron, A.G.E., Pottier, P., & Goubault, M. 2019a. Keep calm, we know each other : kin recognition affects aggressiveness and conflict resolution in a solitary parasitoid. *Anim. Behav.* 151, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2019.03.012>
- Mathiron, A.G.E., Earley, R.L., & Goubault, M. 2019b. Juvenile hormone manipulation affects female reproductive status and aggressiveness in a non-social parasitoid wasp. *Gen. Comp. Endocrinol.* <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.01.006>
- Maynard Smith, J. 1974. The theory of games and the evolution of animal conflicts. *J. Theor. Biol.* 47(1), 209–221. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(74\)90110-6](https://doi.org/10.1016/0022-5193(74)90110-6)
- Maynard Smith, J. 1982. *Evolution and the theory of games*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Maynard Smith, J. 1988. Evolution and the theory of games. In: Maynard Smith, J., (Ed.), *Did Darwin get it right?* (pp. 202–215). Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7862-4_22
- Maynard Smith, J., & Parker, G.A., 1976. The logic of asymmetric animal contests. *Anim. Behav.* 24, 159–175.
- Maynard-Smith, J., & Price, G.R., 1973. The logic of animal conflict. *Nature* 246, 15–18. <https://doi.org/10.1038/246015a0>
- McGregor R. 1997. Host-feeding and oviposition by parasitoids on hosts of different fitness value: influences of egg load and encounter rate. *J. Insect. Behav.* 10, 451–462.
- Melis, M.R., & Argiolas, A. 1995. Dopamine and sexual behavior. *Neurosci. Biobehav. R.* 19(1), 19-38.
- Menzel, R., & Müller, U. 1996. Learning and memory in honeybees: from behavior to neural substrates. *Annu. Rev. Neurosci.* 19(1), 379-404.
- Mitra, A., & Gadagkar, R. 2012. Queen signal should be honest to be involved in maintenance of eusociality: chemical correlates of fertility in *Ropalidia marginata*. *Insectes Soc.* 59(2), 251-255.
- Mohamad, R., Monge, J.-P., & Goubault, M. 2010. Can subjective resource value affect aggressiveness and contest outcome in parasitoid wasps? *Anim. Behav.* 80, 629–636. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.06.022>

- Mohamad, R., Monge, J.-P., & Goubault, M. 2012. Wait or fight? Ownership asymmetry affects contest behaviors in a parasitoid wasp. *Behav. Ecol.* 23, 1330–1337. <https://doi.org/10.1093/beheco/ars125>
- Mohamad, R., Monge, J.-P., & Goubault, M. 2013. Do resource value and ownership status affect intensity and resolution of contests in a parasitoid wasp? *Entomol. Exp. Appl.* 147, 99–109. <https://doi.org/10.1111/eea.12049>
- Mondy, N., Corio-Costet, M.F., Bodin, A., Mandon, N., Vannier, F., & Monge, J.-P. 2006. Importance of sterols acquired through host feeding in synovigenic parasitoid oogenesis. *J. Insect Physiol.* 52(9), 897–904. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2006.03.007>
- Monge, J., & Germain, J.F. 1988. Analyse des stimulations issues de la plante hôte influençant la recherche d'un substrat de ponte et induisant la ponte de *Bruchidius atrolineatus* (Pic) (Coleoptère: Bruchidae): Importance des conditions expérimentales. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 9(1), 89–94.
- Monnin, T. 2006. Chemical recognition of reproductive status in social insects. In: *Annales Zoologici Fennici* (pp. 515–530). Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- Monnin, T., Malosse, C., & Peeters, C. 1998. Solid-phase microextraction and cuticular hydrocarbon differences related to reproductive activity in queenless ant *Dinoponera quadriceps*. *J. Chem. Ecol.* 24(3), 473–490.
- Moore, J.C., & Greeff, J.M. 2003. Resource defence in female pollinating fig wasps: two's a contest, three's a crowd. *Anim. Behav.* 66(6), 1101–1107.
- Moore, J.C., Obbard, D.J., Reuter, C., West, S.A., Cook, J.M. 2008. Fighting strategies in two species of fig wasp. *Anim. Behav.* 76, 315–322
- Moore, I.T., Hernandez, J., Goymann, W. 2019. Who rises to the challenge? Testing the Challenge Hypothesis in fish, amphibians, reptiles, and mammals. *Horm. Behav.* <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2019.06.001>
- Morrell, L.J. Backwell, P.R.Y., & Metcalfe, N.B. 2005. Fighting in fiddler crabs *Uca mjoebergi*: what determines duration? *Anim. Behav.* 70, 653–662
- Murai, M., & Blackwell, P.R. 2005. More signalling for earlier mating: conspicuous male claw waving in the fiddler crab, *Uca perplexa*. *Anim. Behav.* 70, 1093–1097.
- Murdock, G.P. 1959. *Africa its peoples and their culture history*. Mc. Graw Hill, New York, 456 pp.
- Murdock, L.L., Seck, D., Ntougam, G., Kitch, L., & Shade, R.E. 2003. Preservation of cowpea grain in sub-Saharan Africa—Bean/Cowpea CRSP contributions. *Field Crop. Res.* 82(2–3), pp.169–178.

N

- Ndoutoume-Ndong, A. 1996. Capacités parasitaires et plasticité comportementale de deux hyménoptères Eupelmidae (*Eupelmus orientalis* et *Eupelmus Vuilleti*) partenaires de la communauté parasitaire des stades larvaires et nymphaux de *Callosobruchus Maculatus* (Coléoptère Bruchidae) (Doctoral dissertation, University of Tours, Tours).

- Neat, F., Huntingford, F., Beveridge, M. 1998. Fighting and assessment in male cichlid fish: the effects of asymmetries in gonadal state and body size. *Anim. Behav.* 55, 883–891. <https://doi.org/10.1006/anbe.1997.0669>
- Nijhout, H.F. 1994. *Insect hormones*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Nijhout, H.F. 1999. Control mechanisms of polyphenic development in insects: in polyphenic development, environmental factors alter some aspects of development in an orderly and predictable way. *Bioscience*. 49(3), 181–192.
- Noriega, F.G. 2014. Juvenile hormone biosynthesis in insects: what is new, what do we know, and what questions remain? *International scholarly research notices*.
- Nouzova, M., Michalkova, V., Hernandez-Martinez, S., Rivera-Perez, C., Ramirez, C.E., Fernandez-Lima, F., & Noriega, F.G. 2018. JH biosynthesis and hemolymph titers in adult male *Aedes aegypti* mosquitoes. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 95, 10–16.

O

- Ode, P.J., Antolin, M.F., & Strand, M.R. 1995. Brood-mate avoidance in the parasitic wasp *Bracon hebetor* Say. *Anim. Behav.* 49(5), 1239–1248. <https://doi.org/10.1006/anbe.1995.0156>
- Ohkawara, K., & Aonuma, H. 2016. Changes in the levels of biogenic amines associated with aggressive behavior of queen in the social parasite ant *Vollenhovia nipponica*. *Insectes Soc.* 63(2), 257–264.
- Okada, Y., Sasaki, K., Miyazaki, S., Shimoji, H., Tsuji, K., & Miura, T. 2015. Social dominance and reproductive differentiation mediated by dopaminergic signaling in a queenless ant. *J. Exp. Biol.* 218(7), 1091–1098.
- Oliveira, R.F. 2004. Social modulation of androgens in vertebrates: mechanisms and function. *Adv. Study Behav.* 34, 165–239.
- Oliveira, R.F. 2009. Social behavior in context: hormonal modulation of behavioral plasticity and social competence. *Integr. Comp. Biol.* 49, 423–440.
- Ouedraogo, P.A., Monge, J.-P., & Huignard, J. 1991. Importance of temperature and seed water content on the induction of imaginal polymorphism in *Callosobruchus maculatus*. *Entomol. Exp. et Appl.* 59(1), 59–66.
- Ouedraogo, P.A., Sou, S., Sanon, A., Monge, J.P., Huignard, J., Tran, B.E., & Credland, P.F. 1996. Influence of temperature and humidity on populations of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) in two climatic zones of Burkina Faso. *Bull. Entomol. Res.* 86(6), 695–702.

P

- Palaoro, A.V., Velasque, M., Santos, S., & Briffa, M. 2017. How does environment influence fighting? The effects of tidal flow on resource value and fighting costs in sea anemones. *Biol. Lett.* 13(5), 20170011.
- Palombit, R.A. 1993. Lethal territorial aggression in a white-handed gibbon. *Am. J. Primatol.* 31, 311–318. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350310407>

- Pamminger, T., Treanor, D., & Hughes, W.O.H. 2016. Pleiotropic effects of juvenile hormone in ant queens and the escape from the reproduction immunocompetence trade-off. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 283.
- Park, T. 1962. Beetles, competition, and populations. *Science*. 138(3548), 1369-1375.
- Park, Y.I., & Raina, A.K. 2005. Regulation of juvenile hormone titers by soldiers in the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*. *J. Insect Physiol.* 51, 385–391. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.02.001>
- Parker, G.A. 1974. Assessment strategy and the evolution of fighting behaviour. *J. Theor. Biol.* 47, 223–243.
- Parker, G.A. 1984. Evolutionary stable strategies. In: *Behavioural ecology: an evolutionary approach*, 2nd edn (ed. Krebs, J.R., & Davies, N.B.), pp. 30-61. Blackwell Scientific Publications, Oxford
- Parker, G.A. 2013. A personal history of the development of animal contest theory and its role in the 1970s. *Animal contests* (ed. Hardy, I.C.W., & Briffa, M.), pp. xi–xx. Cambridge University Press, Cambridge.
- Parvy, J.-P., Wang, P., Garrido, D., Maria, A., Blais, C., Poidevin, M., & Montagne, J. 2014. Forward and feedback regulation of cyclic steroid production in *Drosophila melanogaster*. *Development*. 141(20), 3955–3965. <https://doi.org/10.1242/dev.102020>
- Pathak, S.C., & Mukerji, R. 1989. The *corpus allatum* in relation to sexual behaviour and aggressiveness in male *Supella supellectilium* (Serville) (Blattoidea: Blattellidae). *J. Insect Physiol.* 35, 751–757. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(89\)90132-7](https://doi.org/10.1016/0022-1910(89)90132-7)
- Payne, R.J.H. 1998. Gradually escalating fights and displays: the cumulative assessment model. *Anim. Behav.* 56, 651– 662.
- Payne, R.J., & Pagel, M. 1997. Why do animals repeat displays? *Anim. Behav.* 54(1), 109-119.
- Pearce, A.N., Huang, Z.Y., & Breed, M.D. 2001. Juvenile hormone and aggression in honey bees. *J. Insect Physiol.* 47, 1243–1247. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(01\)00109-3](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(01)00109-3)
- Peeters, C., Monnin, T., & Malosse, C. 1999. Cuticular hydrocarbons correlated with reproductive status in a queenless ant. *Proc. R. Soc. B.* 266(1426), 1323-1327.
- Pendleton, R.G., Robinson, N., Roychowdhury, R., Rasheed, A., & Hillman, R. 1996. Reproduction and development in *Drosophila* are dependent upon catecholamines. *Life Sci.* 59(24), 2083-2091.
- Pener, M.P. 1968. The effect of Corpora Allata on sexual behaviour and “adult diapause” in males of the red locust. *Entomol. Exp. Appl.* 11, 94–100.
- Penick, C.A., Liebig, J., & Brent, C.S. 2011. Reproduction, dominance, and caste: endocrine profiles of queens and workers of the ant *Harpegnathos saltator*. *J. Comp. Physiol. A.* 197, 1063–1071. <https://doi.org/10.1007/s00359-011-0667-0>
- Penick, C.A., Brent, C.S., Dolezal, K., & Liebig, J. 2014. Neurohormonal changes associated with ritualized combat and the formation of a reproductive hierarchy in the ant *Harpegnathos saltator*. *J. Exp. Biol.* 217(9), 1496-1503.

- Pereira, R., Sivinski, J., & Teal, P.E.A. 2009. Influence of methoprene and dietary protein on male *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) mating aggregations. J. Insect Physiol. 55, 328–335. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.12.010>
- Pérez-Lachaud, G., Hardy, I.C.W., & Lachaud, J.P. 2002. Insect gladiators: competitive interactions between three species of bethylid wasps attacking the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Biol Control. 25, 231–238.
- Petersen, G., & Hardy, I.C.W. 1996. The importance of being larger: parasitoid intruder – owner contests and their implications for clutch size. Anim. Behav. 51, 1363–1373. <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0139>
- Porcheron, P., Moriniere, M., Grassi, J., & Pradelles, P. (1989). Development of an enzyme immunoassay for ecdysteroids using acetylcholinesterase as label. Insect Biochemistry, 19(2), 117–122.
- Prenter, J., Elwood, R. W., & Taylor, P.W. 2006. Self-assessment by males during energetically costly contests over precopula females in amphipods. Anim. Behav. 72(4), 861–868.
- Prevett, P.F. 1966. Observations on biology in the genus *Caryedon* Schönherr (Coleoptera: Bruchidae) in Northern Nigeria, with a list of associated parasitic Hymenoptera. In: Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series A, General Entomology (Vol. 41, No. 1-3, pp. 9-16). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Pursley, S., Ashok, M., & Wilson, T.G. 2000. Intracellular localization and tissue specificity of the Methoprene-tolerant (Met) gene product in *Drosophila melanogaster*. Insect Biochem. Mol. Biol. 30(8-9), 839–845.

Q

- Queller, D.C. 1994. Genetic relatedness in viscous populations. Evol. Ecol. 8(1), 70–73.

R

- R Development Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rachinsky, A. 1994. Octopamine and serotonin influence on corpora allata activity in honey bee (*Apis mellifera*) larvae. J. Insect Physiol. 40(7), 549–554.
- Raikhel, A.S., Brown, M.R., & Belles, X. 2005. 3.9 Hormonal control of reproductive processes. Comp. Mol. Insect Sci. 3, 433–491.
- Ramaseshadri, P., Farkaš, R., & Palli, S.R. 2012. Recent progress in juvenile hormone analogs (JHA) research. Advances in Insect Physiology, first ed. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391500-9.00005-X>
- Ramirez, C.E., Nouzova, M., Benigni, P., Quirke, J.M.E., Noriega, F.G., & Fernandez-Lima, F. 2016. Fast, ultra-trace detection of juvenile hormone III from mosquitoes using mass spectrometry. Talanta. 159, 371–378.

- Rantala, M.J., Vainikka, A., & Kortet, R. 2003. The role of juvenile hormone in immune function and pheromone production trade-offs: a test of the immunocompetence handicap principle. *Proc. R. Soc. B.* 270(1530), 2257-2261.
- Rasplus, J.Y. 1986. Etude des chalcidiens parasites de séminivores dans la région de Lamto: premiers résultats après sept mois de séjour. *Courrier de l'Ecotrop.* 18, 63-80.
- Reddon, A.R., Voisin, M.R., Menon, N., Marsh-Rollo, S.E., Wong, M.Y.L., & Balshine, S. 2011. Rules of engagement for resource contests in a social fish. *Anim. Behav.* 82(1), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.04.003>
- Reece, S.E., Shuker, D.M., Pen, I., Duncan, A.B., Choudhary, A., & Batchelor, C.M., 2004. Kin discrimination and sex ratios in a parasitoid wasp. *J. Exp. Biol.* 17(1), 208–216. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2003.00640.x>
- Reece, S. E., Innocent, T. M., & West, S. A. 2007. Lethal male–male combat in the parasitoid *Melittobia acasta*: are size and competitive environment important?. *Anim. Behav.* 74(5), 1163-1169.
- Reinhold, K. 2003. Influence of male relatedness on lethal combat in fig wasps: a theoretical analysis. *Proc. R. Soc. B.* 270, 1171-1175
- Richard, F.-J., & Hunt, J.H. 2013. Intracolony chemical communication in social insects. *Insectes Soc.* 60(3), 275–291. <https://doi.org/10.1007/s00040-013-0306-6>
- Riddiford, L.M. 1996. Juvenile hormone: the status of its “status quo” action. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America*, 32(3-4), 271-286.
- Riddiford, L.M. 2008. Juvenile hormone action: a 2007 perspective. *J. Insect Physiol.* 54(6), 895-901.
- Riechert, S.E. 1998. Game theory and animal contests. In: Dugatkin, L.A., & Reeve H.K., editors. *Game theory and animal behavior*. New York (NY): Oxford University Press. p. 64–93.
- Ringo, J.M. 2002. Hormonal Regulation of Sexual Behavior in Insects. In: *Hormones, Brain and Behavior* (pp. 93–114). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012532104-4/50038-X>
- Rink, A.N., Altwegg, R., Edwards, S., Bowie, R.C., & Colville, J.F. 2019. Contest dynamics and assessment strategies in combatant monkey beetles (Scarabaeidae: Hopliini). *Behav. Ecol.* 30(3), 713-723.
- Rivero, A., & Casas, J. 1999. Incorporating physiology into parasitoid behavioral ecology: the allocation of nutritional resources. *Res. Popul. Ecol.* 41(1), 39-45.
- Rivero, A., & West, S.A., 2005. The costs and benefits of host feeding in parasitoids. *Anim Behav.* 69, 1293–1301.
- Rivero, A., Giron, D., & Casas, J. 2001. Lifetime allocation of juvenile and adult nutritional resources to egg production in a holometabolous insect. *Proc. R. Soc. B.* 268(1473), 1231-1237.
- Robinson, G.E. 1987. Regulation of honey bee age polyethism by juvenile hormone. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 20(5), 329-338.

- Robinson, G.E. 1992. Regulation of division of labor in insect societies. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 637–665. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.003225>
- Robinson, G.E., & Vargo, E.L. 1997. Juvenile hormone in adult eusocial hymenoptera: gonadotropin and behavioral pacemaker. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35, 559–583. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6327\(1997\)35:4<559::AIDARCHI3>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6327(1997)35:4<559::AIDARCHI3>3.0.CO;2-9)
- Robinson, G.E., Strambi, C., Strambi, A., & Feldlaufer, M.F. 1991. Comparison of juvenile hormone and ecdysteroid haemolymph titres in adult worker and queen honey bees (*Apis mellifera*). *J. Insect Physiol.* 37, 929–935. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(91\)90008-N](https://doi.org/10.1016/0022-1910(91)90008-N)
- Roeder, T. 2005. Tyramine and octopamine: ruling behavior and metabolism. *Annu. Rev. Entomol.* 50, 447–477.
- Roitberg, B.D., Mangel, M., Lalonde, R.G., Roitberg, C.A., & Van Alphen, J.J.M. 1992. Seasonal dynamic shifts in patch exploitation by parasitic wasps. *Behav. Ecol.* 3, 156–165.
- Rojas-Rousse, D., Bressac, C., Thiabeau, C., Kalmès, R., Darrouzet, É., & Chevrier, C. 2005. Capacité de reproduction des femelles *Eupelmus vuilleti* (Eupelmidae), inséminées par des mâles développés en hyperparasitoïdes de *Dinarmus basalis* (Pteromalidae). *C. R. Biol.* 328, 802–811.
- Rolff, J., & Siva-Jothy, M.T. 2002. Copulation corrupts immunity: a mechanism for a cost of mating in insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99(15), 9916–9918.
- Röller, H., Bjerke, J.S., & McShan, W.H. 1965. The juvenile hormone—I. Methods of purification and isolation. *J. Insect Physiol.* 11(9), 1185–1197.
- Röller, H., Dahm, K.H., Sweely, C.C., & Trost, B.M. 1967. The structure of the juvenile hormone. *Angewandte Chemie International Edition in English.* 6(2), 179–180.
- Röseler, P.F., Röseler, I., & Strambi, A. 1980. The activity of *corpora allata* in dominant and subordinated females of the wasp *Polistes gallicus*. *Insectes Soc.* 27, 97–107.
- Röseler, P.F., Röseler, I., Strambi, A., & Augier, R. 1984. Influence of insect hormones on the establishment of dominance hierarchies among foundresses of the paper wasp, *Polistes gallicus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 15, 133–142. <https://doi.org/10.1007/BF00299381>
- Rowland, W.J. 1989. The effects of body size, aggression and nuptial coloration on competition for territories in male threespine sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. *Anim. Behav.* 37, 282–289. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(89\)90117-6](https://doi.org/10.1016/0003-3472(89)90117-6)
- Roy, S., Saha, T.T., Zou, Z., Raikhel, A.S. 2018. Regulatory pathways controlling female insect reproduction. In: Berenbaum, M.R., (Ed.), *Annu. Rev. Entomol.* 63, pp. 489–511. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043258>
- RStudio Team. 2016. RStudio: integrated development for R. Boston (MA): RStudio, Inc. Available from: <http://www.rstudio.com/>
- Ruf, D., Mazzi, D., & Dorn, S. 2010. No kin discrimination in female mate choice of a parasitoid with complementary sex determination. *Behav. Ecol.* 21(6), 1301–1307. <https://doi.org/10.1093/beheco/arq148>

Ruffner, M.E., Cromarty, S.I., & Cooper, R.L. 1999. Depression of synaptic efficacy in high-and low-output *Drosophila* neuromuscular junctions by the molting hormone (20-HE). *J. Neurophysiol.* 81(2), 788-794.

S

Safran, R.J., Adelman, J.S., McGraw, K.J., & Hau, M. 2008. Sexual signal exaggeration affects physiological state in male barn swallows. *Curr. Biol.* 18 (11), R461–R462.

Salt, G. 1961. Competition among insect parasitoids. Mechanisms in biological competition. In: Symposium of the Society for Experimental Biology. 5, 96-119.

Salvador, A., Veiga, J.P., Martin, J., Lopez, P., Abelenda, M., & Puerta, M. 1996. The cost of producing a sexual signal: testosterone increases the susceptibility of male lizards to ectoparasitic infestation. *Behav. Ecol.* 7, 145–150. <https://doi.org/10.1093/beheco/7.2.145>

Sasagawa, H., Sasaki, M., & Okada, I. 1989. Hormonal control of the division of labor in adult honeybees (*Apis mellifera* L.) I. Effect of methoprene on corpora allata and hypopharyngeal gland, and its cr-glucosidase activity. *Jpn. Soc. Appl. Entomol. Zool.* 24, 66–77.

Sasaki, K., & Nagao, T. 2001. Distribution and levels of dopamine and its metabolites in brains of reproductive workers in honeybees. *J. Insect Physiol.* 47(10), 1205-1216.

Sasaki, K., Yamasaki, K., & Nagao, T. 2007. Neuro-endocrine correlates of ovarian development and egg-laying behaviors in the primitively eusocial wasp (*Polistes chinensis*). *J. Insect Physiol.* 53(9), 940-949.

Sasaki, K., Yamasaki, K., Tsuchida, K., & Nagao, T. 2009. Gonadotropic effects of dopamine in isolated workers of the primitively eusocial wasp, *Polistes chinensis*. *Naturwissenschaften.* 96(5), 625-629.

Schal, C., & Bell, W.J. 1983. Determinants of dominant-subordinate interactions in males of the cockroach *Nauphoeta cinerea*. *Biol. Behav.* 8, 117–139.

Schwagmeyer, P.L., & Woontner, S.J. 1985. Mating competition in an asocial ground squirrel, *Spermophilus tridecemlineatus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 17, 291 296. <https://doi.org/10.1007/BF00300149>

Schwedes, C.C., & Carney, G.E. 2012. Ecdysone signaling in adult *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* 58(3), 293-302.

Scott, M.P. 2006a. Resource defense and juvenile hormone: the "challenge hypothesis" extended to insects. *Horm. Behav.* 49, 276–281. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.07.003>

Scott, M.P. 2006b. The role of juvenile hormone in competition and cooperation by burying beetles. *J. Insect Physiol.* 52, 1005–1011.

Segoli, M., Keasar, T., Harari, A. R., & Bouskila, A. 2009. Limited kin discrimination abilities mediate tolerance toward relatives in polyembryonic parasitoid wasps. *Behav. Ecol.* 20(6), 1262-1267.

Shelly, T.E., & Bailey, W.J. 1992. Experimental manipulation of mate choice by male katydids: the effect of female encounter rate. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 30, 277–282.

- Shimoji, H., Aonuma, H., Miura, T., Tsuji, K., Sasaki, K., & Okada, Y. 2017. Queen contact and among-worker interactions dually suppress worker brain dopamine as a potential regulator of reproduction in an ant. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 71.
- Shpigler, H.Y., Saul, M.C., Murdoch, E.E., Cash-Ahmed, A.C., Seward, C.H., Sloofman, L., Chandrasekaran, S., Sinha, S., Stubbs, L.J., & Robinson, G.E. 2017. Behavioral, transcriptomic and epigenetic responses to social challenge in honey bees. *Genes Brain Behav.* 16, 579–591.
- Simmons, L. 1986. Intermale competition and mating success in the field cricket, *Gryllus bimaculatus* (Degeer). *Anim. Behav.* 34, 567–579. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(86\)80126-9](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(86)80126-9)
- Simon, A.F., Shih, C., Mack, A., & Benzer, S. 2003. Steroid control of longevity in *Drosophila melanogaster*. *Science*. 299(5611), 1407–1410.
- Singer, T.L. 1998. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. *Am. Zool.* 38, 394–405
- Singh, S.R., & Rachie, K.O. 1985. Cowpea research, production and utilization. Singh, S.R., & Rachie, K.O. (ed.).
- Sláma, K. 1971. Insect juvenile hormone analogues. *Annu. Rev. Biochem.* 40, 1079–1102. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.40.070171.005243>
- Sledge, M. F., Trinca, I., Massolo, A., Boscaro, F., & Turillazzi, S. 2004. Variation in cuticular hydrocarbon signatures, hormonal correlates and establishment of reproductive dominance in a polistine wasp. *J. Insect Physiol.* 50(1), 73–83.
- Smith, H.A. 1916. An attempt to redefine the host relationships exhibited by entomophagous insects. *J. Econ. Entomol.* 9, 477–486.
- Smith, A.A., & Liebig, J. 2017. The evolution of cuticular fertility signals in eusocial insects. *Curr. Opin. Insect Sci.* 22, 79–84.
- Smith, A.A., Holldober, B., & Liebig, J. 2009. Cuticular hydrocarbons reliably identify cheaters and allow enforcement of altruism in a social insect. *Curr. Biol.* 19, 78–81.
- Smith, A.R., Kapheim, K.M., Perez-Ortega, B., Brent, C.S., & Wcislo, W.T. 2013. Juvenile hormone levels reflect social opportunities in the facultatively eusocial sweat bee *Megalopta genalis* (Hymenoptera: Halictidae). *Horm. Behav.* 63, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.08.012>
- Sokolovska, N., Rowe, L., Johansson, F. 2000. Fitness and body size in mature odonates. *Ecol. Entomol.* 25, 239–248.
- Stamps, J., Sanford, T., & Krishnan, V.V. 1981. The relationship between selectivity and food abundance in a juvenile lizard. *Ecology.* 62, 1079–1092.
- Stay, B., Friedel, T., Tobe, S.S., & Mundall, E.C. 1980. Feedback control of juvenile hormone synthesis in cockroaches: possible role for ecdysterone. *Science*. 207(4433), 898–900.
- Stay, B., Bachmann, J.S., Stoltzman, C.A., Fairbairn, S.E., Yu, C.G., & Tobe, S.S. 1994. Factors affecting allatostatin release in a cockroach (*Diploptera punctata*): nerve section, juvenile hormone analog and ovary. *J. Insect Physiol.* 40(5), 365–372.

- Steiger, S., Peschke, K., Francke, W., & Müller, J.K. 2007. The smell of parents: breeding status influences cuticular hydrocarbon pattern in the burying beetle *Nicrophorus vespilloides*. Proc. R. Soc. B. 274(1622), 2211-2220.
- Steiner, B., Pfister-Wilhelm, R., Grossniklaus-Bürgin, C., Rembold, H., Treiblmayr, K., & Lanzrein, B. 1999. Titres of juvenile hormone I, II and III in *Spodoptera littoralis* (Noctuidae) from the egg to the pupal moult and their modification by the egg-larval parasitoid *Chelonus inanitus* (Braconidae). J. Insect Physiol. 45(4), 401-413.
- Stevenson, P.A., & Schildberger, K. 2013. Mechanisms of experience dependent control of aggression in crickets. Curr. Opin. Neurobiol. 23(3), 318-323.
- Stevenson, P.A., Hofmann, H.A., Schoch, K., & Schildberger, K. 2000. The fight and flight responses of crickets depleted of biogenic amines. J. Neurobiol. 43(2), 107-120.
- Stevenson, P.A., Dyakonova, V., Rillich, J., & Schildberger, K. 2005. Octopamine and experience-dependent modulation of aggression in crickets. J. Neurosci. 25(6), 1431-1441.
- Stockermans, B.C., & Hardy, I.C.W. 2013. Subjective and objective components of resource value additively increase aggression in parasitoid contests. Biol Lett. 9, 20130391.
- Stokkebo, S., & Hardy, I.C.W. 2000. The importance of being gravid: egg load and contest outcome in a parasitoid wasp. Anim. Behav. 59, 1111-1118. <https://doi.org/10.1006/anbe.2000.1407>
- Stout, J.F., Atkins, G.J., Bronsert, M., Hao, J., & Walikonis, R. 2002. Influence of juvenile hormone III on the development and plasticity of the responsiveness of female crickets to calling males through control of the response properties of identified auditory neurons. In: Hormones, Brain and Behavior (pp. 167-XVII). Academic Press.
- Sutherland, W.J. 1996. From individual behaviour to population ecology (Vol. 11). Oxford University Press.
- Suzuki, S. 2013. "Does experience affect the outcome of male-male contests in the burying beetle, *Nicrophorus quadripunctatus*?" Psyche: A Journal of Entomology.
- Szczuka, A., Korczyńska, J., Wnuk, A., Symonowicz, B., Szwacka, A.G., Mazurkiewicz, P., Kostowski, W., & Godzińska, E.J. 2013. The effects of serotonin, dopamine, octopamine and tyramine on behavior of workers of the ant *Formica polyctena* during dyadic aggression tests. Acta Neurobiol. Exp. 73, 495-520.

T

- Takeuchi, T., & Honda, K. 2009. Early comers become owners: effect of residency experience on territorial contest dynamics in a lycaenid butterfly. Ethology. 115(8), 767-773.
- Tatar, M., & Yin, C.M. 2001. Slow aging during insect reproductive diapause: why butterflies, grasshoppers and flies are like worms. Exp. Gerontol. 36, 723-738.
- Tatar, M., Kopelman, A., Epstein, D., Tu, M.P., Yin, C.M., & Garofalo, R.S. 2001. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. Science. 292(5514), 107-110.

- Tatar, M., Bartke, A., & Antebi, A. 2003. The endocrine regulation of aging by insulin-like signals. *Science*. 299(5611), 1346-1351.
- Taylor, P.D. 1992. Altruism in viscous populations—an inclusive fitness model. *Evol. Ecol.* 6, 352–356.
- Taylor, P.W., & Elwood, R.W. 2003. The mismeasure of animal contests. *Anim. Behav.*, 65(6), 1195-1202.
- Tchassanti, T.A.M. 1995. Dynamique des populations de trois coléoptères Bruchidae et de leurs parasitoïdes dans les cultures du Niébé, *Vigna unguiculata Walp.* Diplôme d'Etudes Approfondies, Univ. Bénin, Lomé, Togo, 45 pages.
- Teal, P.E.A., Gomez-Simuta, Y., & Proveaux, A.T. 2000. Mating experience and juvenile hormone enhance sexual signaling and mating in male Caribbean fruit flies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97(7), 3708-3712.
- Terrasse, C. 1986. Mise en évidence et hypothèses de régulation de l'influence du stade de l'hôte, *Callosobruchus maculatus* F. (coléoptère Bruchidae), et de sa taille sur le taux sexuel d'un de ses parasitoïdes, *Bruchocida vuilleti* CWF (hyménoptère: Eupelmidae) (Doctoral dissertation, University of Tours, Tours).
- Terrasse, P.C., & Rojas-Rousse, D. 1986. 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). *J. Appl. Entomol.* 101, 243–256. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00855.x>
- Thomas, H.E., Stunnenberg, H.G., & Stewart, A.F. 1993. Heterodimerization of the *Drosophila* ecdysone receptor with retinoid X receptor and ultraspiracle. *Nature*. 362, 471–75.
- Thompson, C.S., Yagi, K.J., Chen, Z.F., & Tobe, S.S. 1990. The effects of octopamine on juvenile hormone biosynthesis, electrophysiology, and cAMP content of the corpora allata of the cockroach *Diploptera punctata*. *J. Comp. Physiol. B.* 160(3), 241-249.
- Tibbetts, E.A. 2013. The function, development, and evolutionary stability of conventional signals of fighting ability. In: Brockmann, H.J., Roper, T.J., Naguib, M., Mitani, J.C., Simmons, L.W., & Barrett, L. (Eds.), *Adv. Study Behav.* vol 45, pp. 49–80.
- Tibbetts, E.A. 2014. The evolution of honest communication: integrating social and physiological costs of ornamentation. *Integr. Comp. Biol.* 54, 578–590.
- Tibbetts, E.A., & Izzo, A.S. 2009a. Endocrine mediated phenotypic plasticity: condition-dependent effects of juvenile hormone on dominance and fertility of wasp queens. *Horm. Behav.* 56, 527–531. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2009.09.003>
- Tibbetts, E.A. & Izzo, A.S. 2009b. Hormones and behavior endocrine mediated phenotypic plasticity: condition-dependent effects of juvenile hormone on dominance and fertility of wasp queens. *Horm. Behav.* 56, 527–531. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2009.09.003>
- Tibbetts, E.A., & Banan, M. 2010. Advertised quality, caste and food availability influence the survival cost of juvenile hormone in paper wasps. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 277, 3461–3467.
- Tibbetts, E.A., & Huang, Z.Y. 2010. The challenge hypothesis in an insect: juvenile hormone increases during reproductive conflict following queen loss in *Polistes* Wasps. *Am. Nat.* 176, 123–130. <https://doi.org/10.1086/653664>

- Tibbetts, E.A., Izzo, A., & Huang, Z.Y. 2011a. Behavioral and physiological factors associated with juvenile hormone in *Polistes* wasp foundresses. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65, 1123–1131. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1126-6>
- Tibbetts, E.A., Izzo, A., & Tinghitella, R.M. 2011b. Juvenile hormone titer and advertised quality are associated with timing of early spring activity in *Polistes dominulus* foundresses. *Insect. Soc.* 58, 473–478.
- Tibbetts, E.A., Vernier, C., & Jinn, J. 2013. Juvenile hormone influences precontest assessment behaviour in *Polistes dominulus* paper wasps. *Anim. Behav.* 85, 1177–1181. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2013.03.003>
- Tibbetts, E.A., Crocker, K., & Huang, Z.Y. 2016. Socially selected ornaments influence hormone titers of signalers and receivers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 8478–8483.
- Tibbetts, E.A., Fearon, M.L., Wong, E., Huang, Z.Y., & Tinghitella, R.M. 2018. Rapid juvenile hormone downregulation in subordinate wasp queens facilitates stable cooperation. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 285. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.2645>
- Tibbetts, E.A., Laub, E.C., Mathiron, A.G.E., & Goubault, M. 2019. The challenge hypothesis in insects. *Horm. Behav.*
- Tillman, J.A., Seybold, S.J., Jurenka, R.A., & Blomquist, G.J. 1999. Insect pheromones—an overview of biosynthesis and endocrine regulation. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 29(6), 481–514.
- Tobe, S.S., & Stay, B. 1985. Structure and regulation of the corpus allatum. *Adv. Insect Phys.* 18, 305–432. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60043-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60043-0)
- Tobias, J. 1997. Asymmetric territorial contests in the European robin: the role of settlement costs. *Anim. Behav.*, 54(1), 9–21.
- Todoroki, Y., & Numata, H. 2017. Host discrimination modulates brood guarding behaviour and the adaptive superparasitism in the parasitoid wasp *Trissolcus semistriatus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Physiol. Entomol.* 42, 362–368.
- Toivonen, J.M., & Partridge, L. 2009. Endocrine regulation of aging and reproduction in *Drosophila*. *Mol. Cell. Endocrinol.* 299(1), 39–50.
- Truman, J.W., Hiruma, K., Allee, J.P., MacWhinnie, S.G.B., Champlin, D.T., & Riddiford, L.M. 2006. Juvenile hormone is required to couple imaginal disc formation with nutrition in insects. *Science*. 312(5778), 1385–1388.
- Trumbo, S.T. 1997. Juvenile hormone-mediated reproduction in burying beetles: from behavior to physiology. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35, 479–490.
- Trumbo, S.T. 2007. Can the “challenge hypothesis” be applied to insects? *Horm. Behav.* 51, 281–285. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.11.002>
- Trumbo, S.T., & Robinson, G.E. 2004. Nutrition, hormones and life history in burying beetles. *J. Insect Physiol.* 50(5), 383–391.

- Trumbo, S.T., & Robinson, G.E. 2008. Social and nonsocial stimuli and juvenile hormone titer in a male burying beetle, *Nicrophorus orbicollis*. *J. Insect Physiol.* 54, 630–635.
 - Tsai, Y.J.J., Barrows, E.M., & Weiss, M.R. 2014. Pure Self-Assessment of size during male–male contests in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*. *Ethology.* 120(8), 816–824.
 - Tu, M.P., Flatt, T., & Tatar, M. 2005. Juvenile and steroid hormones in *Drosophila melanogaster* longevity. In: *Handbook of the Biology of Aging* (pp. 415–448). Academic Press.
 - Turillazzi, S., Cervo, R., Cavallari, I. 1990. Invasion of the nest of *Polistes dominulus* by the social parasite *Sulcopolistes sulcifer* (Hymenoptera: Vespidae). *Ethology.* 84, 47–59.
 - Turillazzi, S., Sledge, M. F., Dapporto, L., Landi, M., Fanelli, D., Fondelli, L., Zanetti, P., & Dani, F.R. 2004. Epicuticular lipids and fertility in primitively social wasps (Hymenoptera Stenogastrinae). *Physiol. Entomol.* 29(5), 464–471.
- ## U
- Ueno, T., 1999. Host-size-dependent sex ratio in a parasitoid wasp. *Res. Popul. Ecol.* 41, 47–57.
 - Utida, S. 1953. 'Phase' dimorphism observed in the laboratory population of the cowpea weevil, *Callosobruchus quadrimaculatus*. *Jpn. J. Appl. Zool.* 18, 161–168.
- ## V
- Van Alebeek, F.A.N. 1991. “Interspecific host discrimination by two solitary ectoparasitoids of immature stages of Bruchidae.” Rijksuniversiteit Faculteit Landbouwwetenschappen. Gent.
 - van Alphen, J.J., Bernstein, C., & Driessen, G. 2003. Information acquisition and time allocation in insect parasitoids. *Trends Ecol. Evol.* 18(2), 81–87.
 - Van Doorn, A. 1989. Factors influencing dominance behaviour in queenless bumblebee workers (*Bombus terrestris*). *Physiol. Entomol.* 14, 211–221 <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1989.tb00954.x>
 - Verrell, P.A. 1986. Wrestling in the red-spotted newt (*Notophthalmus viridescens*); resource value and contestant asymmetry determine contest duration and outcome. *Anim. Behav.* 34, 398–402.
 - Vieira, M.C., & Peixoto, P.E. 2013. Winners and losers: a meta-analysis of functional determinants of fighting ability in arthropod contests. *Funct. Ecol.* 27(2), 305–313.
 - Villavicencio, C.P., Apfelbeck, B., & Goymann, W. 2013. Experimental induction of social instability during early breeding does not alter testosterone levels in male black redstarts, a socially monogamous songbird. *Horm. Behav.* 64, 461–467.
 - Vinson, S.B., & Iwantsch, G.F. 1980. Host regulation by insect parasitoids. *Q. Rev. Biol.* 55(2), 143–165.
 - Visser, M.E. 1994. The importance of being large: the relationship between size and fitness in females of the parasitoid *Aphaereta minuta* (Hymenoptera: Braconidae). *J. Anim. Ecol.* 63, 963–978.

- Visser, M.E., van Alphen, J.J.M., & Nell, H.W. 1990. Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: the influence of the number of parasitoids depleting a patch. *Behaviour*. 114, 21–36.
 - Visser, M.E., van Alphen, J.J.M., & Nell, H.W. 1992. Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: the influence of pre-patch experience. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 31, 163–171.
 - Vitousek, M.N., Stewart, R.A., & Safran, R.J. 2013. Female plumage colour influences seasonal oxidative damage and testosterone profiles in a songbird. *Biol. Lett.* 9(5), 20130539
 - Vogel, E.R. 2005. Rank differences in energy intake rates in white-faced capuchin monkeys, *Cebus capucinus*: the effects of contest competition. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 58, 333–344. <https://doi.org/10.1007/s00265-005-0960-4>
 - Von Beeren, C., Schulz, S., Hashim, R., & Witte, V. 2011. Acquisition of chemical recognition cues facilitates integration into ant societies. *BMC Ecol.* 11. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-11-30>
- ## W
- Wai, K.M., & Fujii, K. 1990. Intraspecific larval competition among wasps parasitic of bean weevil larvae. *Popul. Ecol.* 32(1), 85–98.
 - Walde, S.J., Luck, R.F., Yu, D.S., & Murdoch, W.W. 1989. A refuge for red scale: the role of size-selectivity by a parasitoid wasp. *Ecology*. 70, 1700–1706.
 - Wehling, M. 1994. Nongenomic actions of steroid hormones. *Trends Endocrin. Metab.* 5(8), 347–353.
 - Weidner, H., & Rack, G. 1984. Tables de détermination des principaux ravageurs des denrées entreposées dans les pays chauds. Deutsche Gesellschaft für technische Zusammenarbeit.
 - Weinbauer, G.F., Luetjens, C.M., Simoni, M., & Nieschlag, E. 2010. Physiology of testicular function. In: *Andrology* (pp. 11–59). Springer, Berlin, Heidelberg.
 - Werner, E.E., & Hall, D.J. 1974. Optimal foraging and the size selection of prey by the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Ecology*. 55, 1042–1052.
 - West, S.A., Murray, M.G., Machado, C.A., Griffin, A.S., & Herre, E.A. 2001. Testing Hamilton's rule with competition between relatives. *Nature*. 409, 510–513.
 - West, S.A., Pen, I., & Griffin, A.S. 2002. Cooperation and competition between relatives. *Science*. 296, 72–75.
 - West-Eberhard, M.J. 1979. Sexual selection, social competition, and evolution. *Proc. Am. Philos. Soc.* 123(4), 222–234. <https://doi.org/10.1086/413215>
 - West-Eberhard, M.J. 1989. Kin recognition in animals. *Evolution*. 43(3), 703–705. <https://doi.org/10.1080/0810902032000050000>
 - West-Eberhard, M.J. 1996. Wasp societies as microcosms for the study of development and evolution. In: Turillazzi, S., & West-Eberhard, M., (Eds.), *Natural History and Evolution of Paper Wasps*. Oxford University Press, Oxford, pp. 290–331.

- Wheeler, D.E. 1996. The role of nourishment in oogenesis. *Annu. Rev. Entomol.* 41, 407–431. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.41.1.407>
- Wheeler, D.E., & Nijhout, H.F. 2003. A perspective for understanding the modes of juvenile hormone action as a lipid signaling system. *Bioessays*. 25(10), 994-1001.
- Wicker, C., & Jallon, J.-M. 1995. Influence of ovary and ecdysteroids on pheromone biosynthesis in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Eur. J. Entomol.* 197–202.
- Wiesel, G., Tappermann, S., & Dorn, A. 1996. Effects of juvenile hormone and juvenile hormone analogues on the phase behaviour of *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*. *J. Insect Physiol.* 42, 385–395.
- Wilkinson, J.D., & Ignoffo, C.M. 1973. Activity of a juvenile hormone analogue on a parasitoid, *Apanteles rubecula*, via its host, *Pieris rapae*. *J. Econ. Entomol.* 66(3), 643-645.
- Williams, C.M. 1951. Morphogenesis and the metamorphosis of insects. *Harvey Lect.* 126.
- Willis, J.H. 1969. The programming of differentiation and its control by juvenile hormone in saturniids. *Development*. 22(1), 27-44.
- Wilson, K., & Hardy, I.C.W. 2002. Statistical analysis of sex ratios: an introduction. In: Hardy, I.C.W., (Ed.), *Sex Ratios: Concepts and Research Methods. Part 2. Statistical Analysis of Sex Ratio Data*. Cambridge University Press, New York, pp. 46–92.
- Winberg, S., & Nilsson, G.E. 1993. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*. 106(3), pp.597-614.
- Wingfield, J.C. 1984. Androgens and mating systems: testosterone-induced polygyny in normally monogamous birds. *Auk*. 101, 665–671. <https://doi.org/10.2307/4086893>
- Wingfield, J.C. 2017. The challenge hypothesis: where it began and relevance to humans. *Horm. Behav.* 92, 9-12.
- Wingfield, J.C., & Lewis, D.M. 1993. Hormonal and behavioral responses to simulated territorial intrusion in the cooperatively breeding white-browed sparrow weaver *Plocepasser mahali*. *Anim. Behav.* 45, 1–11.
- Wingfield, J.C., Ball, G.F., Dufty, A.M., Hegner, R.E., & Ramenofsky, M. 1987. Testosterone and aggression in birds. *Am. Sci.* 75, 602–608.
- Wingfield, J.C., Hegner, R.E., Dufty, A.M., & Ball, G.F. 1990. The challenge hypothesis - theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *Am. Nat.* 136, 829–846.
- Wingfield, J.C., Hegner, R.E., & Lewis, D.M. 1991. Circulating levels of luteinizing hormone and steroid hormones in relation to social status in the cooperatively breeding white-browed sparrow weaver, *Plocepasser mahali*. *J. Zool.* 225(1), 43-58.
- Wingfield, J.C., Lynn, S.E., & Soma, K.K. 2001. Avoiding the 'costs' of testosterone: ecological bases of hormone behavior interactions. *Brain Behav. Evolut.* 57, 239–251.
- Wingfield, J.C., Wacker, D.W., Bentley, G.E., & Tsutsui, K., 2018. Brain-derived steroids, behavior and endocrine conflicts across life history stages in birds: a perspective. *Front. Endocrinol.* 9

Woodhead, A.P., Stay, B., Seidel, S.L., Khan, M.A., and Tobe, S.S. 1989. Primary structure of four allatostatins: Neuropeptide inhibitors of juvenile hormone synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A of the United States of America*. 86, 5997–6001.

Woodring, J., & Hoffmann, K.H. 1994. The effects of octopamine, dopamine and serotonin on juvenile hormone synthesis, in vitro, in the cricket, *Gryllus bimaculatus*. *J. Insect Physiol.* 40(9), 797-802.

Wyatt, G.R., & Davey, K.G. 1996. Cellular and molecular actions of juvenile hormone. II. Roles of juvenile hormone in adult insects. In: *Advances in insect physiology* (Vol. 26, pp. 1-155). Academic Press.

Y

Yamamoto, R., Bai, H., Dolezal, A.G., Amdam, G., & Tatar, M. 2013. Juvenile hormone regulation of *Drosophila* aging. *BMC Biol.* 11(1), 85.

Yao, T.P., Segraves, W.A., Oro, A.E., McKeown, M., Evans, R.M., 1992. *Drosophila* ultraspiracle modulates ecdysone receptor function via heterodimer formation. *Cell*. 71, 63–72.

Young, A.J., 2009. The causes of physiological suppression in vertebrate societies: A synthesis. In: *Reproductive Skew in Vertebrates: Proximate and Ultimate Causes*, pp. 397–436.

Z

Zacchi, F., Cervo, R., & Turillazzi, S. 1996. How *Polistes semenowi*, obligate social parasite, invades the nest of its host, *Polistes dominulus* (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc. Life*. 1, 125–130.

Zera, A.J. 2007. Endocrine analysis in evolutionary-developmental studies of insect polymorphism: hormone manipulation versus direct measurement of hormonal regulators. *Evol. Dev.* 9, 499–513. <https://doi.org/10.1111/j.1525-142X.2007.00181.x>

Zera, A.J., & Harshman, L.G. 2001. The physiology of life history trade-offs in animals. *Annu. Rev. Ecol. S.* 32(1), 95-126.

Zhou, C., Rao, Y. & Rao, Y. 2008. A subset of octopaminergic neurons are important for *Drosophila* aggression. *Nat. Neurosci.* 11(9), 1059.

Ziegler, V.R. 1972. Sexual- und Territorialverhalten der Schabe *Gromphadorhina brunneri* Butler. *Adv. Ethol.* 31, 531–541.

AGRESSIVITÉ ET RÉOLUTION DES CONFLITS CHEZ UN HYMÉNOPTÈRE PARASITOÏDE SOLITAIRE, *EUELMUS VUILLETI* :

Étude des stratégies comportementales et de leur médiation hormonale

Résumé

Au sein du règne animal, les individus d'une même espèce sont souvent en conflit pour l'accès à certaines ressources. Chez les parasitoïdes solitaires, les femelles peuvent entrer en compétition directe pour accéder à un hôte qui représente une ressource indispensable à leur succès reproducteur. Au cours de cette thèse, nous avons étudié les facteurs susceptibles de modifier les comportements des individus et l'issue des combats pour l'accès à un hôte chez les femelles d'un hyménoptère parasitoïde solitaire, *Eupelmus vuilleti*. Nous avons notamment exploré l'effet de la valeur de l'hôte : une larve ou une nymphe de la bruche du Niébé, *Callosobruchus maculatus*. De plus, nous avons testé si le niveau d'apparentement génétique entre les compétitrices joue un rôle dans l'évitement de la compétition et la résolution des conflits. Nous nous sommes également intéressés à la médiation hormonale de l'agressivité exprimée durant les conflits, en se concentrant sur deux familles d'hormones déjà connues pour réguler différents traits d'histoire de vie et comportements chez les insectes adultes : l'hormone juvénile et les ecdystéroïdes.

Mots-clés : Écologie comportementale, endocrinologie, compétition intraspécifique, conflits pour l'accès à une ressource, comportements agonistiques entre femelles, valeur de la ressource, théorie de la sélection de parentèle, médiation hormonale du comportement, guêpe ectoparasitoïde solitaire, *Eupelmus vuilleti*, *Callosobruchus maculatus*, *Vigna unguiculata*.

Résumé en anglais

Within the animal kingdom, individuals of the same species are often in conflict for access to certain resources. In solitary parasitoids, females can compete directly for access to a host that is an essential resource for their reproductive success. During this thesis, we investigated the factors that influence the display of agonistic behaviour and the outcome of contest over host in females of the solitary parasitoid wasp *Eupelmus vuilleti*. More specifically, we investigated the effect of host value: a larva or pupa in the cowpea seed beetle, *Callosobruchus maculatus*. Moreover, we tested whether the genetic relatedness between contestants plays a role in the avoidance of competition and conflict resolution. We also investigated the hormonal mediation of aggressiveness during conflict, focusing on two families of hormones already known to regulate different life history traits and behaviours in adult insects: juvenile hormone and ecdysteroids.

Key words: Behavioural ecology, endocrinology, intraspecific competition, conflict over resource access, agonistic behaviours between females, resource value, kin selection theory, hormonal mediation of behaviour, solitary ectoparasitoid wasps, *Eupelmus vuilleti*, *Callosobruchus maculatus*, *Vigna unguiculata*.