



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1
Mention : Biologie

Ecole doctorale Vie – Agro – Santé

présentée par

Mikaël BILI

Préparée à l'UMR 1349 « IGEPP »
Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes
UFR Sciences de la Vie et de l'Environnement

**Eléments de
différenciation de la
niche écologique chez
deux coléoptères
parasitoïdes en
compétition :
comportement et
communautés
bactériennes.**

**Thèse soutenue à Rennes
le 18 décembre 2014**

devant le jury composé de :

Didier BOUCHON

Professeur, Université de Poitiers / *rapporteur*

Emmanuel DESOUHANT

Professeur, Université de Lyon 1 / *rapporteur*

Geneviève PREVOST

Professeur, Université Picardie Jules Verne /
examineur

Cécile LE LANN

Maître de Conférences, Université de Rennes 1 /
examineur

Denis POINSOT

Maître de Conférences, Université de Rennes 1 /
directeur de thèse

Anne Marie CORTESERO

Professeur, Université de Rennes 1 / *co-directrice
de thèse*

Remerciements

Après trois années en thèse, comme tout doctorant, il y a un grand nombre de personnes que j'aimerais remercier tant au sein de l'UMR IGEPP que parmi les gens qui m'épaulent (i. e. "me supportent") depuis plus longtemps.

Mais tout d'abord je tiens à remercier sincèrement Didier Bouchon, Emmanuel Desouhant, Geneviève Prevost et Cécile Le Lann pour avoir accepté sans hésiter de prendre le temps et de se déplacer à Rennes (avec plus ou moins de difficultés) afin de juger ce travail. Votre intérêt et vos questions m'ont permis de savourer pleinement la défense de cette thèse.

Je n'oublierai pas mes encadrants, Denis Poinso et Anne Marie Cortesero. Je vous remercie de tout cœur pour ces trois années partagées et pour les précieux conseils prodigués toujours avec humour et bienveillance. Vous avez su faire preuve de patience tout au long de cette aventure et en particulier pendant la rédaction de ce manuscrit. Votre soutien et votre attention ont été essentiels pour me permettre de réussir cette étape de mon parcours professionnel et je vous en serai éternellement reconnaissant.

Je n'oublierai pas non plus les membres de mes deux comités de thèse : Gwennola Ermel, Marlène Goubault, Yannick Outreman, Sylvain Fournet, Christophe Mougel et « mon tuteur de thèse » David Renault. Merci infiniment d'avoir porté autant d'intérêt à mon travail et d'avoir confronté mes projets à leur faisabilité. Vos conseils ont également été essentiels dans le développement de ce travail.

Je voudrais également remercier les personnes avec qui j'ai vécu au quotidien au sein de l'ex « Laboratoire d'écophysiologies des insectes parasitoïdes ». Les chercheurs : Lilianne Krespi, Dennis Webb et Sebastien Dugravot. Vos conseils et votre humour ont toujours été d'un grand soutien. Les techniciennes : Valérie, Chrystelle, Maryline et Sonia. Grâce à vos petites attentions et votre présence, j'ai vraiment apprécié de venir travailler au quotidien. Les doctorants : Céline, toujours à la bourre, Alan, mon « collègue de bureau », Maxime, toujours d'un grand soutien pour les statistiques et c'est la moindre des tes qualités et Fabrice avec qui on peut se « couper de la thèse » en à peine deux jours. Les stagiaires, ceux que j'ai encadré : Lucile, Nicolas, Aurélie, Bénédicte et Florent et aussi les autres pour leur

bonne humeur et leur humour dans des conditions de travail parfois pas très marrantes. Enfin, un merci tout particulier à Jeff pour ses visites qui nous ont fait voyager sans bouger du labo.

Je tiens à remercier également l'ensemble des personnes que j'ai eu la chance de rencontrer au sein de l'UMR IGEPP. Citer l'ensemble des personnes de l'unité de recherche que j'ai rencontré au cours de cette thèse serait fastidieux et surtout dangereux. Par peur d'oublier des noms, je me contenterai de tous vous remercier globalement pour votre accueil, les moments que nous avons partagé pendant une présentation, une réunion d'équipe, un repas ou pendant une manip. Que vous soyez chercheurs, personnel technique ou doctorant, ces moments resteront gravés dans ma mémoire. Je tiens tout de même à remercier particulièrement Denis Tagu pour sa bienveillance avec les doctorants intégrés à son institut de recherche et Jean Christophe Simon pour avoir su animer les réunions d'équipe toujours avec beaucoup d'humour même quand elles commençaient à trainer en longueur et pour m'avoir accordé du temps lorsque j'avais des difficultés pour analyser les résultats que j'obtenais.

Enfin, j'aimerais remercier mon entourage, ma famille, qui m'a toujours soutenu dans mes choix de poursuivre sans fin mes études (ah bah si c'est fini!), ma belle-famille, pour leur soutien (notamment lors de la défense de la thèse) et mes amis pour m'avoir soutenu même lorsque j'ai eu moins de temps à partager avec eux. Enfin je clôturerai ces remerciement par ma moitié, France, qui m'a toujours encouragé tout au long de ce travail, qui m'a soutenu dans les moments de doutes et qui par ses propres déboires de thèse m'a permis de me considérer chanceux lorsque tout allait bien.

Résumé

Lorsque deux espèces exploitent la même niche écologique, elles entrent en compétition pour l'accès aux ressources. Or, un accès limité aux ressources réduit la fitness des individus. La compétition interspécifique va donc agir comme une pression de sélection qui peut mener à des modifications physiologiques ou comportementales pour partager les ressources, car si elles ne sont pas partagées la compétition entraînera le déplacement ou la disparition d'une des deux espèces. *Aleochara bilineata* et *A. bipustulata* sont deux coléoptères staphylins parasitoïdes qui s'attaquent à la mouche du chou *Delia radicum*. Elles ont des paramètres biologiques différents, notamment au niveau des traits d'histoire de vie (qui semblent avantager *A. bipustulata*) et du spectre d'hôtes (plus généraliste chez *A. bipustulata*). Ces deux espèces partagent cependant la même stratégie d'exploitation des hôtes et présentent l'originalité que la femelle pond ses œufs à proximité des hôtes et non à l'intérieur, ce qui les distingue des hyménoptères parasitoïdes qui font l'objet de nombreuses études. La larve *Aleochara* de premier stade est donc mobile et doit trouver et sélectionner elle-même un hôte pour s'y développer. Il y a ainsi des possibilités d'adaptations comportementales à la compétition à la fois pour les adultes et les larves de premier stade. Dans ce projet de thèse, nous avons donc choisi d'explorer la niche écologique de ces deux espèces de façon originale en étudiant les modifications comportementales induites par la présence de compétiteurs à la fois chez les femelles adultes et les larves de premier stade. Nous avons également identifié les communautés bactériennes associées aux deux espèces en compétition mais aussi à leur hôte *D. radicum* et à un autre compétiteur parasitoïde, l'hyménoptère *Trybliographa rapae*, dans le but d'étudier ultérieurement les impacts des différents partenaires bactériens sur la niche écologique des deux espèces de coléoptères en compétition. Nos résultats montrent que les femelles de l'espèce spécialiste *A. bilineata* adaptent leurs comportements aux compétiteurs qu'elles rencontrent et sélectionnent les sites de ponte présentant les meilleures chances de succès parasitaire pour leurs larves. Par ailleurs, les larves de premier stade de l'espèce spécialiste dominent largement la compétition larvaire lorsqu'elles sont en compétition avec les larves de l'espèce généraliste. Enfin, les communautés bactériennes des deux espèces de coléoptères sont plus proches entre elles qu'avec les autres membres du réseau trophique étudiés mais comportent des différences à explorer. Ces résultats sont discutés dans le cadre de l'adaptation des choix comportementaux des individus d'une espèce spécialiste à la présence de compétiteurs généralistes et de la coexistence de ces deux espèces dans le milieu naturel.

Mots clés : niche écologique, compétition, modifications comportementales, adaptation, communautés bactériennes, réseau trophique, coexistence, *Aleochara*, coléoptère parasitoïde.

Abstract

When two species live in the same ecological niche, they compete for resources. Since a limited access to resources reduces fitness, interspecific competition represents a selection pressure that can lead to physiological or behavioral changes to share resources, because not sharing them will cause the displacement or disappearance of the weaker competitor. *Aleochara bilineata* and *Aleochara bipustulata* are two coleopteran parasitoids and attack the same host, the cabbage root fly *Delia radicum*. These two species have different biological parameters, particularly in their life history traits (which seem to favor *A. bipustulata*) and host spectrum (*A. bipustulata* is more generalist). These two species share the same strategy to exploit their host (idiobiont ectoparasitoid). Unlike parasitoid wasps (the object of most studies on parasitoids) coleopteran parasitoid females do not lay their eggs directly inside the host but in locations likely to harbour hosts. *Aleochara* first instars are mobile and need to find and select a host where they will develop. There is thus the possibility of behavioral adaptations to competition for both for adults and first instars. In this project, we have chosen to explore the ecological niche of these two species in an original way by studying behavioral changes induced by the presence of competitors both in adult females and first instars. We also studied bacterial communities associated to the two competing species but also those of their host *D. radicum* and of another competitor, the parasitoid wasp *Trybliographa rapae*, in order to later study the impacts of different bacterial partners in the ecological niche of the two beetle species in competition. Our results show that females of the specialist *A. bilineata* adapt their behavior to the competitors they face and select oviposition sites with the best probability of parasitism success. Moreover, first instars of *A. bilineata* dominate the larval competition when competing with larvae of the generalist *A. bipustulata*. Finally, bacterial communities of the two rove beetles are closer to each other than other members of the food web studied and their differences should be investigated. These results are discussed in the context of behavioral adaptation of specialists to the presence of generalist competitors and the coexistence of these two species in the field.

Keywords: ecological niche, competition behavioural modification, adaptation, bacterial communities, food web, coexistence of species *Aleochara*, coleopteran parasitoid

Table des matières

Remerciements.....	i
Résumé.....	vii
Table des matières.....	ix
Avant propos.....	1
Chapitre 1 : Introduction.....	5
I. La niche écologique et la compétition.....	7
1. la compétition.....	7
2. les mécanismes.....	7
3. les conséquences	9
a. l'exclusion compétitive.....	9
b. le processus de spécialisation.....	10
c. les stratégies r et K comme modèle de compromis permettant la coexistence entre espèces.....	11
d. structuration et diversité des communautés : la théorie unifiée de la biodiversité	11
e. la coexistence entre espèces phylogénétiquement proches.....	13
II. La compétition chez les parasitoïdes.....	13
1. définition	13
2. les différents niveaux de compétition.....	15
3. les stratégies d'exploitation des hôtes.....	16
a. les stratégies larvaires d'exploitation des hôtes.....	16
b. les stratégies d'exploitation des hôtes chez les adultes.....	18
III. Les communautés bactériennes d'insectes.....	21
1. une communauté.....	22
2. des partenaires plus ou moins indépendants.....	22
3. un phénotype étendu pour l'hôte.....	25
IV. Objectif global de la thèse.....	27

Chapitre 2 : <i>Aleochara bilineata</i> et <i>A. bipustulata</i> : des modèles originaux de parasitoïdes en compétition.....	29
I. Les modèles biologiques.....	31
1. L'hôte.....	31
2. Les staphylins parasitoïdes.....	34
II. Les objectifs de la thèse.....	40
Chapitre 3 : La compétition par interférence entre femelles adultes.....	43
Manuscrit 1 : Female contests and competitor-driven clutch size adaptation in a specialist coleopteran parasitoid(en préparation pour <i>Animal Behaviour</i>).....	45
Introduction.....	48
Material & methods.....	52
Results.....	55
Discussion.....	59
Chapitre 4 : La compétition entre larves de premier stade.....	69
Manuscrit 2 : Host specialization and competition asymmetry in coleopteran parasitoids (en révision par <i>Oecologia</i>).....	71
Introduction.....	74
Material & methods.....	77
Results.....	79
Discussion.....	81
Chapitre 5 : Les communautés bactériennes	91
Manuscrit 3 : Bacterial community diversity harboured by interacting species(soumis à <i>PloS One</i>).....	93
Introduction.....	96
Material & methods.....	100
Results.....	104
Discussion.....	110
Chapitre 6 : Conclusion et perspectives.....	125
I. Synthèse des travaux.....	127
II. Perspectives à cette étude.....	133
Références bibliographiques hors manuscrits.....	141

Avant propos

L'objectif de cette thèse était d'étudier les mécanismes comportementaux permettant à deux espèces compétitrices de coexister de manière stable dans le milieu naturel malgré la similarité de leur niche écologique. Nous avons utilisé pour cela deux coléoptères staphylinins parasitoïdes du genre *Aleochara*, qui sont en compétition pour un hôte commun largement majoritaire dans les cultures de crucifères : la mouche du chou *Delia radicum*. Les études précédentes avaient mis en évidence le spectre d'hôte plus généraliste, l'arrivée plus précoce des individus et la plus grande longévité et fécondité des femelles *A. bipustulata*, ce qui laissait supposer l'existence de mécanismes compensateurs chez le compétiteur plus spécialisé *A. bilineata*.

Nous avons décidé d'étudier ces deux espèces aux deux niveaux de compétition présents chez les parasitoïdes, à savoir aux stades adulte et larvaire. Pour chaque stade, nous avons étudié l'issue de la compétition et les modifications comportementales qui pouvaient être induites par la présence directe de compétiteurs. Du fait de leurs différences dans le degré de spécialisation à l'hôte mais de leur stratégie similaire d'exploitation de la ressource, nous avons voulu tester dans ce travail la relation entre spécialisation, asymétrie de la compétition et capacités compétitives chez ces parasitoïdes originaux chez lesquels les larves trouvent et évaluent l'hôte de manière autonome. Par ailleurs, les bactéries se révélant de plus en plus comme des partenaires agissant sur de nombreux traits écologiques de leurs hôtes, nous avons caractérisé par séquençage à haut débit les communautés bactériennes de ces insectes dans une étape préliminaire visant à identifier des bactéries "candidates" pouvant avoir un impact sur la niche écologique de leurs hôtes et sur les interactions de compétition entre les deux espèces. Ce séquençage s'inscrit par ailleurs dans l'étude originale du microbiome d'un réseau trophique (celui de la mouche du chou et de ses ennemis naturels).

L'introduction de ce manuscrit de thèse présente la notion de niche écologique, la compétition, ses mécanismes et les conséquences sur la structuration des communautés d'insectes, pour se focaliser ensuite sur la compétition chez les parasitoïdes et les différentes stratégies d'exploitation des hôtes. Nous présentons ensuite les communautés bactériennes en général et les différents types de partenaires bactériens avec lesquels les organismes vivants sont en interactions ainsi que les impacts qu'ils peuvent avoir sur leur hôte. Après avoir présenté la mouche du chou et les deux parasitoïdes en compétition en insistant sur leurs particularités biologiques, nous présentons les objectifs développés dans les trois manuscrits de ce travail de thèse. Le premier manuscrit démontre l'existence de modifications comportementales induites par la présence de compétiteurs chez les

femelles de l'espèce spécialiste *A. bilineata*, qui semblent, en situation de choix, préférer pour leurs larves une compétition interspécifique à une compétition intraspécifique. Le second manuscrit décrit l'issue de la compétition entre les larves de premier stade des deux espèces lorsqu'elles sont en compétition directe pour un hôte et démontre la supériorité du spécialiste au stade larvaire en cas de conflit direct, même dans le cas où il rencontre l'hôte alors que son compétiteur y est déjà installé depuis 24h. Ces résultats suggèrent que la réaction des femelles du spécialiste observées dans le premier manuscrit est adaptative. Dans le troisième manuscrit, nous décrivons les communautés bactériennes des deux espèces de coléoptères parasitoïdes, de leur hôte principal en Bretagne *D. radicum* et d'un hyménoptère également parasitoïde de *D. radicum*. Ces résultats mettent en évidence la présence de nombreux symbiotes (au sens large) dont plusieurs espèces à transmission verticale susceptibles d'avoir des effets majeurs sur leur hôte, et donc d'influencer la compétition entre les deux *Aleochara*. Après avoir rappelé les principaux résultats de cette thèse, nous concluons sur leur pertinence pour expliquer la coexistence de *A. bilineata* et *A. bipustulata* dans le milieu naturel. Enfin, nous terminons ce manuscrit par les études qu'il reste à mener sur d'autres acteurs pouvant avoir un impact sur le partage de la même ressource par plusieurs espèces.

Chapitre 1 : Introduction

I. La niche écologique et la compétition

La niche écologique est un des concepts de l'écologie qui définit l'ensemble des ressources nécessaires à un organisme pour se maintenir, croître et se reproduire (Tilman 1992). Ainsi Hutchinson (1957) définit la niche écologique comme un hypervolume où chaque dimension de l'espace représente une ressource ou un paramètre de l'environnement influençant la survie et la reproduction des individus ; les ressources étant définies comme tout ce qui peut permettre à une population de croître : sites de pontes, abris, partenaires sexuels, ou plus classiquement les ressources trophiques. Les paramètres de l'environnement peuvent également être variés et englobent des paramètres physiques tels que la température ou l'humidité relative mais également des éléments biotiques comme la présence d'ennemis naturels ou de compétiteurs. Plus récemment, la définition de la niche écologique s'est élargie pour englober également l'impact de l'organisme lui-même sur son environnement (Chase et Leibold 2003, Meszéna *et al.* 2006).

1. La compétition

Lorsque plusieurs individus exploitent au moins partiellement les mêmes ressources, on dit qu'ils sont en compétition. La compétition est une interaction négative car l'exploitation de la ressource par un individu va en diminuer l'accès pour les autres individus. Or, un accès limité aux ressources diminue la fitness en réduisant la capacité à se reproduire (Monrod 1950). Les interactions de compétition peuvent intervenir entre individus de la même espèce (on parle alors de compétition intraspécifique) mais elles peuvent également avoir lieu entre individus appartenant à des espèces différentes (on parlera alors de compétition interspécifique). Root (1967) a introduit la notion de guild pour regrouper l'ensemble des espèces qui exploitent la même ressource trophique au sein du même écosystème. Pour les autres types de ressources, on parlera plutôt de groupe fonctionnel.

2. Les mécanismes

On peut différencier plusieurs mécanismes de compétition, dont les effets seront directs ou indirects. La compétition **par exploitation** intervient indirectement lorsque l'utilisation d'une ressource par un organisme réduit sa disponibilité pour d'autres organismes (Krebs & Davies, 1981). Il peut s'agir par exemple des partenaires sexuels quand la réceptivité des femelles à un accouplement diminue lorsqu'elles se sont déjà accouplées (Gilbert 1976) mais cela concerne surtout les ressources trophiques. Un des exemples les plus classiques est celui de la compétition indirecte entre les plantes pour l'énergie lumineuse : en poussant, une plante va diminuer la quantité d'énergie lumineuse qui parvient aux plantes se trouvant directement sous elle ce, qui va limiter leur croissance (Clément *et*

al. 1929). C'est également le cas pour tous les systèmes prédateurs/proie, où l'intensité de la compétition par exploitation entre les compétiteurs augmente avec la rareté des proies (Gilbert 1985, Safina *et al.* 1988) puisqu'une proie consommée n'est plus disponible pour les autres membres de la guilde (Sinclair *et al.* 2003, pour une revue voir DeMott 1989).

Alors que la compétition par exploitation implique que les compétiteurs n'interagissent pas directement, la compétition **par interférence** définit, les interactions directes permettant à un organisme de limiter l'exploitation d'une ressource par un autre organisme (Birsch 1957). La compétition par interférence peut se traduire par l'émission de composés toxiques pour les autres organismes comme dans le cas des bactéries ou de certaines espèces de plantes qui inhibent ainsi la croissance de leurs voisins directs (Mack et Harper 1977). Chez les animaux, elle se traduit souvent par des comportements agressifs. La ressource peut être l'espace, comme pour un des exemples les plus classiques en écologie celui des balanes qui vivent en agrégats fixées aux rochers, et qui en grossissant finissent par se toucher ce qui limite leur croissance (Connell 1961). La lutte peut être plus active : l'espèce *Chthamalus stellatus* peut vivre dans les eaux profondes et peu profondes, pourtant, en présence de son compétiteur, *Semibalanus ballanoides*, elle n'est présente que dans les eaux peu profondes. En fait *S. ballanoides* cisaille sa compétitrice pendant sa croissance et lui prend sa place sur les rochers ce qui limite la répartition de *C. stellatus* aux eaux peu profondes que son compétiteur ne colonise pas (Connell 1961). Morse (1971) a également décrit des comportements agressifs chez la grive des bois (*Hylocichla mustelina*) envers deux autres espèces de grives sympatriques pour la délimitation des territoires. Chaque année, ces comportements sont émis uniquement pendant la première semaine de recolonisation de leur zone de reproduction. Une fois les territoires délimités, les interactions ne donnent plus lieu à des comportements agressifs jusqu'à l'année suivante. Les partenaires sexuels sont également la source de combats ponctuels chez la plupart des animaux, qui changent leur comportement en période de reproduction. Ce sont en général les mâles qui se disputent la faveur du plus grand nombre de femelles lors de combats ritualisés mais parfois très violents et chez certaines espèces de singes ou de papillons, les femelles peuvent également se disputer les faveurs d'un mâle (Carpenter 1942, Jiggins 2002, Emlen et Oring 1977). Dans les systèmes proies/prédateurs, les comportements agressifs sont fréquents lorsque deux prédateurs se disputent une proie (Ross 1986, Merkle *et al.* 2009). Ces comportements peuvent être émis pour s'approprier la proie d'un autre individu (i.e. kleptoparasitisme) ou pour défendre une proie. Chez les araignées sociales, *Stegodyphus dumicola*, il y a une forte compétition par interférence entre les individus pour consommer la tête et le thorax des proies capturées dans la toile commune car ces parties sont celles qui permettent de prendre le plus de poids (Whitehouse et Lubin 1999). Certains prédateurs utilisent le kleptoparasitisme comme méthode de chasse. La frégate

d'Andrews, *Fregata andrewsi*, se nourrit de poissons vivants mais elle n'est pas très habile pour la pêche. Elle n'hésite donc pas à attaquer d'autres oiseaux en vol pour leur voler leurs proies (Osorno *et al.* 1992). Chez les charognards tels que les vautours ou les hyènes, la compétition par interférence est omniprésente lors de la prise de repas (Bosé et Sarrazin 2007). Lors de la compétition par interférence, certains prédateurs peuvent tuer et consommer leur compétiteur (i.e. prédation intragilde; Berger et Geese 2007). Chez les coccinelles, par exemple, les interactions entre différentes larves mènent souvent à du cannibalisme ou à de la prédation intragilde (Lucas *et al.* 1998, Snyder *et al.* 2004). De même chez des mammifères carnivores tels que le renard roux et le renard arctique, des cas de prédation intragilde du premier sur le deuxième ont été décrits (Tannerfeldt *et al.* 2002).

Enfin, un dernier type de compétition indirecte, la **compétition apparente**, a été décrit plus récemment dans le cas où deux organismes sont attaqués par le même prédateur, parasitoïde ou pathogène (Holt 1977, Bonsall & Hassel 1999). L'augmentation du nombre d'individus dans l'une des deux espèces de proies diminue les effectifs de l'autre en augmentant le nombre d'ennemis naturels. C'est par exemple le cas de l'élan du Canada, *Alces alces*, et du caribou des bois, *Rangifer tarandus*, dans les forêts du Canada. En augmentant ses populations, l'élan favorise l'augmentation du nombre de loups, ce qui a un impact négatif sur le caribou, également chassé par le loup (Whittmer *et al.* 2005).

3. Les conséquences

1. L'exclusion compétitive

L'une des principales conséquences de la compétition interspécifique a été mise en évidence expérimentalement par Gause (1934). Le principe d'exclusion compétitive stipule que deux espèces distinctes qui utilisent la même ressource limitante ne peuvent pas coexister de manière stable, la plus compétitive des deux finissant par exclure l'autre (Crombie 1946, Park 1948). Les études qui ont testé cette théorie indiquent que la compétition peut effectivement mener au déplacement ou à la disparition d'une espèce même dans le milieu naturel (Sorribas *et al.* 2010), mais également que des douzaines d'espèces peuvent survivre dans le même environnement aux dépens des mêmes ressources limitantes, en contradiction apparente avec le principe d'exclusion compétitive ("paradoxe du plancton", Hutchinson 1961). Ces études ont également permis de mettre en évidence des mécanismes de coexistence entre espèces par des différences dans leurs niches écologiques notamment spatiales et temporelles, car l'exclusion compétitive se déroulant habituellement sur de nombreuses générations, la compétition représente une pression de sélection pouvant mener à des modifications physiologiques et/ou comportementales permettant finalement le partage des

ressources entre deux espèces au lieu de l'exclusion totale de l'une par l'autre (MacArthur 1972, Brown & Wilson 1956, pour une revue, voir Dayan & Simberloff 2005). L'environnement joue un rôle capital et des modifications de l'environnement peuvent changer l'issue de la compétition entre espèces (Morin 1981, Clark & Clark 1984, Hammond *et al.* 1998, Wilson & Tilman 1993).

2. Le processus de spécialisation

Lorsque les ressources sont limitées et qu'un compétiteur est présent, la quantité exploitée par une espèce est inférieure à celle qu'elle exploiterait en l'absence de compétition. De sa niche écologique théorique (niche fondamentale), l'individu n'exploite qu'une partie des ressources, on parle de la niche réalisée (Chase et Leibold 2003). La trajectoire menant de la niche fondamentale à la niche réalisée correspond au processus de **spécialisation écologique** (Devictor *et al.* 2010). Les espèces peuvent alors être distinguées selon leur degré de spécialisation à la ressource. Plus une espèce est spécialiste, plus sa niche écologique sera étroite : elle sera adaptée à une moins large gamme de ressource et de conditions environnementales (Futuyma 2001). Toutefois, une gamme environnementale plus restreinte rend les espèces spécialistes plus sensibles que les généralistes aux changements environnementaux. Les stratégies généralistes sont donc non seulement plus efficaces lorsque chaque type de ressource est peu abondant mais aussi lorsque l'environnement est instable (MacArthur & Pianka, 1966). Ainsi, deux forces opposées génèrent la diversité spécifique des guildes : d'un côté la compétition interspécifique favorise la spécialisation des espèces et le partage des ressources alors que la faible disponibilité des ressources et l'instabilité d'un milieu favorisent au contraire les stratégies généralistes.

Plus une espèce est généraliste, plus elle va être en interaction avec une grande diversité de compétiteurs dont chaque espèce représentera une petite fraction de la pression de compétition. A l'inverse, les espèces spécialistes, en exploitant un spectre de ressources plus réduit, sont en contact avec une moins grande diversité de compétiteurs que les espèces généralistes. Ainsi, chaque compétiteur pourra représenter une part notable des pressions de compétition subies, ce qui peut mener à une adaptation. Connell (1980) estimait que cette adaptation était possible uniquement dans les guildes peu diversifiées. Elle pourrait permettre alors aux espèces spécialistes à la fois de mieux détecter la présence de leurs compétiteurs hétérospécifiques et d'adapter plus efficacement leur physiologie et/ou leur comportement à leur présence. Ainsi, les espèces spécialistes sont censées être plus performantes que les espèces généralistes dans les conditions de leur niche écologique (Devictor *et al.* 2010).

3. Les stratégies r et K comme modèle de compromis permettant la coexistence entre espèces

Les études sur la compétition, souvent descriptives, concernent rarement plus de deux espèces et se sont principalement intéressées à l'impact de la compétition sur l'abondance des compétiteurs (Schoener 1983). Une autre approche consiste à considérer des traits importants dans la compétition entre certaines espèces et de s'en servir pour prédire l'impact de la compétition sur d'autres espèces. Ainsi, des traits d'histoire de vie et des stratégies comportementales différents ont été mis en évidence chez les êtres vivants. Mac Arthur (1962) dresse le premier une dichotomie des espèces en fonction de ces traits et il les associe à deux stratégies dites "r" et "K". La stratégie r est associée à une stratégie pionnière ou colonisatrice, à une disponibilité des ressources élevée et une compétition faible, tandis que la stratégie K est plutôt associée à une exploitation efficace des ressources et à une compétition intense. Les caractéristiques associées à chaque stratégie ne sont pas absolues et représentent des extrêmes qui peuvent donner lieu à des compromis chez les espèces en compétition. La stratégie r est caractérisée par une importante capacité d'accroissement des populations, à savoir une fécondité importante et un taux de développement rapide malgré une longévité plutôt faible. Ce sont souvent des espèces plutôt opportunistes avec un spectre de ressources large et une capacité de dispersion importante. Les espèces pionnières, dans le cas d'insectes qui ont un cycle annuel, apparaîtront plus tôt dans la saison ou juste après une perturbation. En revanche, la stratégie K est associée à des espèces très compétitives, souvent spécialisées sur un spectre de ressources plutôt étroit avec une longévité souvent élevée mais avec un faible taux d'accroissement des populations car un temps de développement plus long. La dispersion a été mise en évidence plus récemment comme pouvant faire l'objet d'un compromis évolutif dans le cadre de la colonisation (Amarasekare 2003). Le concept de stratégie r et K a généré un grand nombre d'études sur la compétition et a été appliqué à différents modèles où la bonne représentation des deux types de stratégies pourrait permettre à de nombreuses espèces de persister dans la même guild (Force 1972, 1974).

4. Structuration et diversité des communautés : la théorie unifiée de la biodiversité

La théorie des niches écologiques suggère donc que la coexistence stable des espèces en compétition serait principalement due à des compromis dans l'exploitation de chaque axe de la niche écologique leur permettant, finalement, le partage des ressources (Huissman et Weissing 1999, Chesson 2000, Rees *et al.* 2001). Dans ce contexte, les individus de la même espèce ont évidemment les traits écologiques les plus similaires. La compétition intraspécifique sera donc plus intense que la

compétition entre différentes espèces. Ainsi, au sein d'une espèce, les phénotypes rares c'est à dire avec des traits écologiques légèrement différents pourront exploiter des micro-niches et seront favorisés face aux phénotypes plus communs ce qui à l'échelle de la communauté permettrait l'exploitation des ressources par un plus grand nombre d'individus mais également indirectement par un plus grand nombre d'espèces et ce, malgré des différences de performances compétitives (MacArthur 1972, Tilman 1977, Chesson 2000, Imura *et al.* 2003, Vellend 2006, Lichstein *et al.* 2007, Fridley et Grime 2009, pour une revue voir Bolnick *et al.* 2011). Même si cette théorie permet souvent d'expliquer la structuration des communautés à l'échelle locale ou régionale, elle ne permet pas de l'expliquer à plus grande échelle. Dans les années 2000, une autre théorie plus mécaniste a été imaginée, limitant l'impact de la compétition interspécifique et de l'exclusion compétitive sur les traits écologiques, la diversité et l'abondance des espèces: la théorie neutre de la biodiversité (Hubbell 2001, 2005, 2006, Bell 2000, 2001, Chave 2004). Dans cette théorie, toutes les espèces ont des paramètres démographiques équivalents leur permettant de conserver une fitness moyenne identique pour toutes les espèces d'une communauté. L'abondance des espèces serait alors due à des phénomènes de stochasticité démographique et la composition des communautés varierait en fonction de la disparition aléatoire de certaines espèces à l'échelle locale, qui serait compensée par des phénomènes de spéciation et de dispersion sur une plus grande échelle (Hubbell 2001, 2005, 2006, Bell 2000, 2001, Chave 2004). Toutefois, l'hypothèse de départ de cette théorie selon laquelle toutes les espèces ont des paramètres démographiques équivalents est rarement observée dans les communautés où la compétition entre les espèces est souvent asymétrique ce qui rend la coexistence instable et mène parfois, même dans le milieu naturel, à l'exclusion compétitive. Cette théorie a mené les auteurs à développer des théories unifiées englobant à la fois les phénomènes de stochasticité démographique tels que la dispersion, la spéciation ou l'extinction aléatoire de certaines espèces mais tenant également compte de l'impact des interactions entre espèces et de l'exclusion compétitive pour expliquer la diversité et l'abondance des espèces et l'évolution de leurs traits écologiques au sein des communautés (Tilman 2004, Chase 2005, Adler *et al.* 2007, Gewin 2006, Venner *et al.* 2011).

Le défi actuel consiste toujours à séparer l'impact de la compétition interspécifique sur la modification des traits écologiques des espèces à l'échelle locale d'une part, des processus macro-évolutifs à de plus grandes échelles géographiques d'autre part, et vérifier les prédictions des modèles sur les processus de structuration des communautés (Chase et Myers 2011). La vitesse d'évolution des traits écologiques n'est également pas encore bien connue malgré l'urgence de son étude notamment du fait des changements environnementaux générés par l'homme qui représentent souvent des modifications majeures de la niche écologique pour de nombreuses

espèces. Le développement et l'utilisation plus généralisée des outils génétiques devraient permettre de mieux comprendre cette dynamique et de pouvoir analyser un plus grand nombre d'espèces et de communautés (Wiens 2011).

5. la coexistence d'espèces phylogénétiquement proches

Darwin (1859) observait que *"...species of the same genus have usually, though by no means invariably, some similarity in habits and constitution..."*. Ce n'est que récemment que les écologistes se sont intéressés à nouveau à la relation entre proximité phylogénétique et similitude écologique. Ces études ont permis de confirmer les observations de Darwin à savoir que des espèces phylogénétiquement proches ont souvent des similarités écologiques (Ackerly 2003, Wiens & Graham 2005) mais elles ont également montré que cette relation n'est pas systématique (Sachet *et al.* 2009, Venner *et al.* 2011). La compétition entre individus de la même espèce est la plus intense, mais la pression de compétition entre des espèces à la fois phylogénétiquement et écologiquement proches est forte pour les mêmes raisons et certains auteurs émettent l'hypothèse qu'elle serait à l'origine du déplacement rapide de certains caractères permettant la coexistence de ces espèces (Gould et Eldredge 1977, Schluter 2000).

II. La compétition chez les parasitoïdes

1. définition

Le terme parasitoïde a été attribué à Reuter (1913) par Waage et Greathead (1986) décrivant des espèces ayant un cycle de vie intermédiaire entre la prédation et le parasitisme ce qui pouvait englober de nombreux groupes d'organismes tels que des insectes, des nématodes entomophages, des champignons entomopathogènes voire des protistes, des plathelminthes, des crustacés ou encore des virus. La définition des parasitoïdes a depuis été restreinte pour ne concerner que des insectes dont le développement se fait au détriment d'un hôte unique, le plus souvent un autre arthropode : les larves se nourrissent du corps de l'hôte, ce qui cause sa mort (Eggleton et Gaston 1990, Santos et Quicke 2011 ; Figure 1). Le mode de vie parasitoïde a été décrit chez près de 90000 espèces appartenant à six ordres d'insectes. Près de 75% des espèces recensées sont des Hyménoptères. Les Diptères (~20%) et les Coléoptères (~5%) sont également bien représentés tandis que les Lépidoptères, les Trichoptères et les Neuroptères ne comptent qu'une cinquantaine d'espèces parasitoïdes en tout (Eggleton et Gaston 1990, Godfray 1994, Feener et Brown 1997).

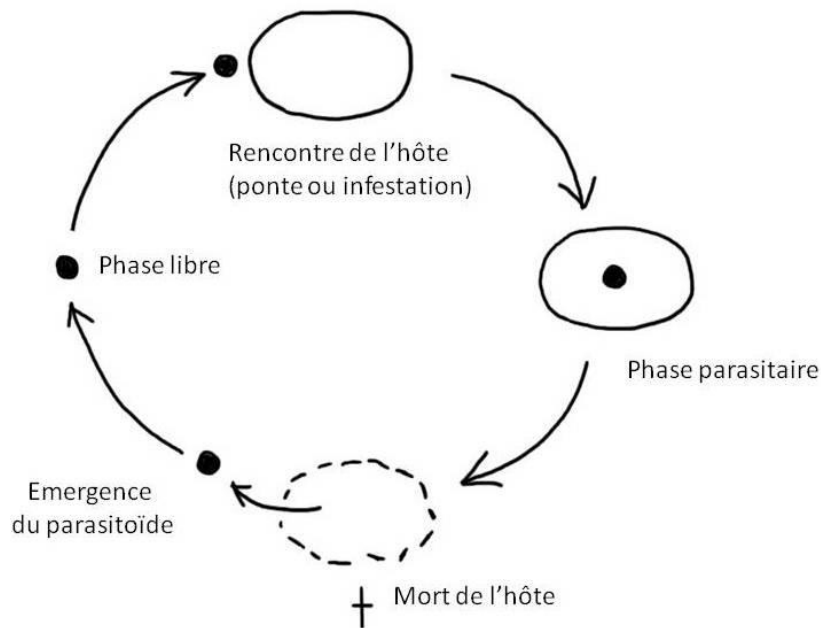


Figure 1 : Schéma simplifié du cycle biologique d'un parasitoïde.

La spécificité du cycle biologique des parasitoïdes fait que contrairement aux prédateurs, l'exploitation d'un hôte ne fait pas disparaître la ressource immédiatement : l'hôte parasité reste utilisable par un prédateur ou un autre parasitoïde pendant un temps variable (dépendant notamment de la durée de développement du parasitoïde). Pour la femelle parasitoïde, l'exploitation de chaque nouvel hôte représente un descendant potentiel et correspond donc à un gain en fitness. Les hôtes représentent la seule source de nourriture disponible pour le développement de leurs larves et cette ressource peut être limitante ; les hôtes peuvent alors faire l'objet d'une intense compétition entre les parasitoïdes (Keddy 1989). Cependant, tous les hôtes ne se valent pas. En effet en fonction de leur taille, de leur statut physiologique, de leur stade de développement ou, dans le cas de la compétition, de leur statut parasitaire (sain ou déjà parasité par un compétiteur), ils vont modifier les choix des femelles parasitoïdes et ils influenceront directement la fitness des descendants, ce qui fait des parasitoïdes de très bons modèles pour étudier la compétition. Par ailleurs, les parasitoïdes forment des guildes très complexes et de nombreuses espèces différentes peuvent parfois partager la même espèce d'hôte (Price 1972, Elzinka *et al.* 2007).

De nombreuses stratégies d'exploitation des hôtes ont été mises en évidence chez les parasitoïdes (Pennacchio et Strand 2006). L'étude de ces stratégies a permis de mieux comprendre les mécanismes de partage des ressources et les compromis permettant la coexistence de nombreuses espèces au sein de ces guildes.

2. Les différents niveaux de compétition chez les parasitoïdes

Chez les parasitoïdes comme chez les autres organismes, la compétition peut se dérouler entre les femelles adultes, à la fois indirectement par l'exploitation des hôtes ou directement par des interactions entre femelles durant l'exploitation d'un hôte, on parle de compétition **extrinsèque** (De Moraes 1999). La compétition peut également se dérouler entre larves au sein d'un hôte. On parle alors de compétition **intrinsèque** (De Moraes 1999). Enfin, certaines interactions peuvent se faire à l'interface de ces deux niveaux. En effet, les femelles peuvent également détruire les œufs où les larves de leurs compétiteurs, supprimant ainsi la compétition pour leurs descendants. Cette stratégie est appelée **ovicide** ou **larvicide** lorsque les stades immatures du compétiteur sont détruits mais il peut également s'agir de **prédation intraguerde** lorsque ses œufs sont mangés (Arakawa 1987, Polis *et al.* 1989, Figure 2 C et D). Cette stratégie peut être limitée par le gardiennage des hôtes par les femelles, comme par exemple chez l'hyménoptère *Goniozus nephantidis* (Goubault *et al.* 2007a, Collier *et al.* 2007).

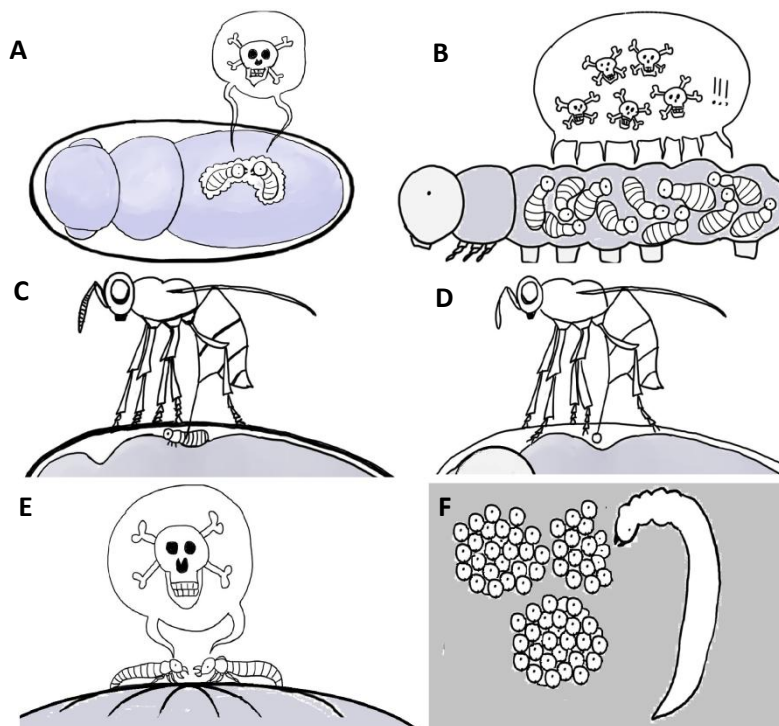


Figure 2 : Différents cas d'interactions compétitives entre parasitoïdes lors de l'exploitation d'un hôte par les larves : A. Combats à l'intérieur de l'hôte entre deux endoparasitoïdes solitaires ("compétition intrinsèque") ; B. Interactions compétitives entre larves de parasitoïdes grégaires : "scramble compétition" ; C. "Larvicide" ; D. "Ovicide" ; E. Interaction compétitives entre larves de parasitoïdes solitaires à l'extérieur de l'hôte ("compétition larvaire extrinsèque") ; F. Attaque d'une "larve-soldat" sur des groupes d'embryons au sein de l'hôte. Illustrations D. Poinso.

3. Les stratégies d'exploitation des hôtes

Les stratégies d'exploitation des hôtes peuvent donc être séparées en deux catégories selon qu'elles concernent la compétition intrinsèque ou la compétition extrinsèque.

1. les stratégies larvaires d'exploitation des hôtes

Les stratégies d'exploitation utilisées par les larves de parasitoïdes au sein d'une guildes peuvent être déterminantes dans l'issue de la compétition intrinsèque et la coexistence des espèces. Chez les parasitoïdes dits "**grégaire**s", de nombreuses larves peuvent se développer au sein du même hôte. La compétition entre les larves sera alors résolue comme la plupart des cas de compétition par exploitation : la quantité de ressource disponible pour les larves lors du développement déterminera directement la taille et donc la fitness des individus émergents (Wang et Messing 2004). Chez les espèces grégaires, on parle le plus souvent de "*scramble competition*" car les larves se bousculent sans pour autant qu'il y ait d'interactions agressives entre elles (Visser 1996, Figure 2B). Lorsque des larves ne peuvent pas se développer faute d'accès aux ressources alimentaires, on parle de suppression physiologique (Vinson et Hegazi 1998). Chez quelques parasitoïdes, les œufs sont dits polyembryonniques et se divisent de façon clonale, augmentant ainsi la taille de la portée qui peut atteindre 2000 embryons chez certaines espèces (Ode et Strand 1995). La plupart des embryons (~90%) se développent alors normalement et donnent finalement un adulte lors du dernier stade larvaire de l'hôte tandis que d'autres (~10%) se développent prématurément pour donner des "larves-soldat" qui vont défendre leurs sœurs contre d'autres larves de parasitoïdes et détruisent les embryons d'autres femelles (Figure 2F). Les "larves-soldat" finissent par mourir lorsque l'hôte meurt et que les larves "normales" continuent leur développement (Cruz 1981, 1986; Strand et Grbic 1992, Grbic *et al.* 1996, 1998).

D'autres larves de parasitoïdes doivent consommer chacune la totalité de leur hôte pour se développer, on parle alors de parasitoïdes "solitaires". Dans ce cas, une seule larve peut se développer dans un hôte et toute larve excédentaire est éliminée au cours de combats physiques (Fisher 1961, Figure 2A), pouvant dans certains cas diminuer la taille des individus émergents ou mener à la mort des deux compétiteurs en impliquant donc une baisse de fitness (Harvey *et al.* 2009, revue dans Harvey *et al.* 2013). Pour ces combats, les larves des parasitoïdes solitaires possèdent de grandes mandibules et sont également capables de se déplacer à l'intérieur de l'hôte pour pouvoir attaquer les œufs ou les larves des autres parasitoïdes (Salt 1961).

Par ailleurs, les parasitoïdes peuvent également être séparés selon le sort immédiat de l'hôte suite à la ponte. Certains parasitoïdes adultes tuent ou paralysent immédiatement leur hôte au moment où ils pondent, on parle alors d'espèces **idiobiontes**. La quantité de ressources que la larve pourra utiliser sera alors fixe (Figure 3C). Chez les parasitoïdes **koïnobiontes**, au contraire, l'hôte survit initialement à la ponte et les larves se développent au sein d'un hôte encore vivant qui continue de s'alimenter (Figure 3D). Dans ce cas, l'hôte représente une quantité de ressource dynamique et la taille finale de l'hôte sera parfois multipliée plusieurs fois (revue dans Harvey *et al.* 2013). Enfin, les larves de parasitoïdes peuvent être classées selon leur position dans l'hôte pendant le développement. On distinguera alors les **ectoparasitoïdes** qui consomment l'hôte depuis l'extérieur souvent au sein du cocon de l'hôte en n'ayant jamais de rapport intime avec l'intérieur du corps de leur hôte (Figure 3B), des **endoparasitoïdes**, qui eux sont pondus et se développent à l'intérieur du corps de l'hôte et doivent interagir avec son système immunitaire (Strand et Pech 1995 ; Figure 3A). Les ectoparasitoïdes sont principalement idiobiontes alors que les endoparasitoïdes sont plutôt des koïnobiontes (Jervis *et al.* 2001, 2012).

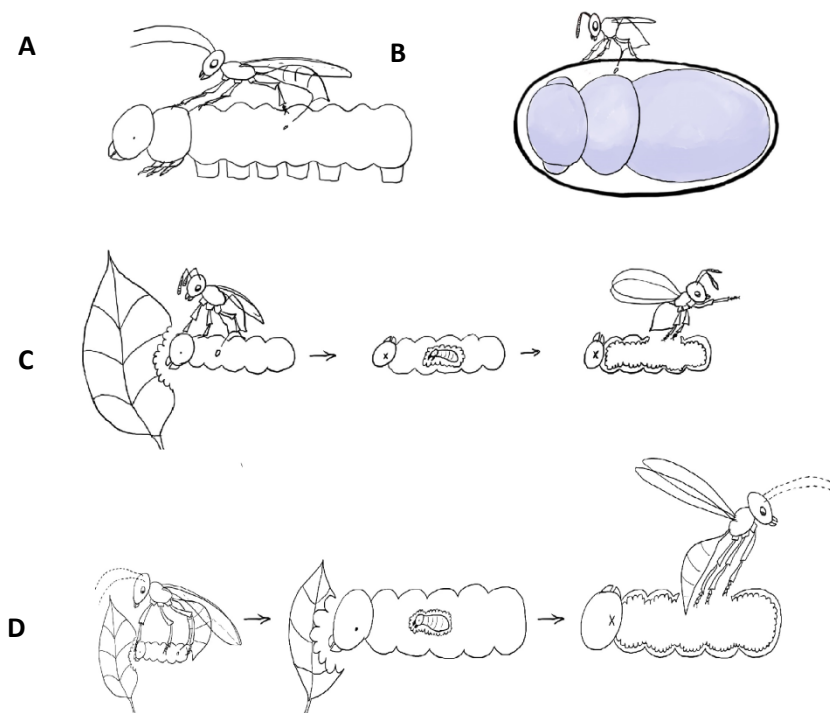


Figure 3 : Stratégie d'exploitation des hôtes chez les parasitoïdes : A. Endoparasitoïde ; B. Ectoparasitoïde ; C. Idiobionte ; D. Koinobionte. Illustrations D. Poinsot.

Les koïnobiontes endoparasitoïdes solitaires présentent un avantage dans la compétition intrinsèque car leur biologie leur permet d'exploiter leurs hôtes à un stade très précoce où ils représentent encore très peu de ressources, longtemps avant les vagues suivantes de parasitoïdes idiobiontes ou

d'ectoparasitoïdes qui ont besoin d'un hôte plus grand. Ainsi elles peuvent présenter un avantage de taille ou de développement face aux œufs pondus par la suite dans le même hôte (Slansky 1986). Toutefois, des contre-exemples existent et certaines espèces d'idiobionte ectoparasitoïdes peuvent arrêter le développement des larves koinobionte endoparasitoïdes en injectant un venin lors de la ponte (revue dans Harvey *et al.* 2013). En général cependant, l'ordre d'attaque des parasitoïdes est un facteur déterminant dans l'issue de la compétition intrinsèque au bénéfice du premier parasitoïde présent dans ou sur l'hôte (Chow et Mackauer 1984, Mackauer 1990, Harvey *et al.* 2012). Plus l'écart entre les deux attaques est grand, plus l'avantage sera important. Chez les hyménoptères, les femelles pondent leurs œufs directement sur ou dans l'hôte et le temps de développement pour atteindre le premier stade larvaire mobile peut varier en fonction des espèces et être un facteur déterminant car en fait c'est la première larve éclore qui aura le bénéfice d'attaquer son compétiteur dans sa phase la plus vulnérable (l'œuf) (Mackauer 1990, Tillman et Powell 1992, De Moraes 1999, Goubault *et al.* 2003). La taille des larves est également un facteur déterminant l'issue de la compétition intrinsèque et être plus gros est le plus souvent un avantage (Petersen et Hardy 1996).

L'issue de la compétition intrinsèque en fonction de la spécialisation à l'hôte montre en revanche des résultats contrastés : dans certains cas, les espèces spécialistes sont comme attendu les plus performantes dans la compétition intrinsèque pour leur hôte de prédilection mais parfois ce sont des espèces généralistes qui se montrent les plus compétitives (Iwao & Ohsaki 1996, Stilmant *et al.* 2008).

2. Les stratégies d'exploitation chez les adultes

Les femelles parasitoïdes exploitent une ressource souvent disséminée dans leur environnement sous forme de patchs constitués d'un certain nombre d'hôtes de qualité différente. L'exploitation de ces patchs d'hôtes va donc se faire en plusieurs étapes : tout d'abord une phase d'exploration et de détection des patchs d'hôtes, puis l'estimation de la qualité du patch d'hôtes, le choix d'un hôte et le parasitisme ou non de celui-ci et enfin le choix de rester ou non dans le patch pour une nouvelle séquence de choix d'un hôte. L'ensemble des règles de décisions qui permettent à un individu de maximiser son aptitude phénotypique dans un environnement donné sont regroupées dans la théorie de "l'approvisionnement optimal" ("Optimal Foraging"), développée par Charnov (1976). La capacité de localisation des hôtes peut être variable chez les femelles parasitoïdes et cette étape peut être impliquée dans le processus de partage des ressources (De Moraes *et al.* 1999). De nombreux facteurs modifiant le comportement de prospection des femelles parasitoïdes dans un patch ont été identifiés et notamment la présence de compétiteurs peut faire quitter le patch à la femelle prématurément (Outreman *et al.* 2005, Goubault *et al.* 2005, Le Lann *et al.* 2008, 2011). Si

elles y restent, les femelles vont juger de la valeur de l'hôte. Ainsi, dans le cas de la compétition, il a été montré chez de nombreuses espèces que les femelles étaient capables de discriminer les hôtes parasités et non parasités permettant notamment à l'espèce la moins performante dans la compétition intrinsèque d'éviter de pondre dans un hôte occupé par une espèce plus compétitive (Mackauer 1990). Pourtant, il arrive que des femelles pondent à l'intérieur d'un hôte déjà parasité par une autre espèce (**multiparasitisme**) ou par un congénère (**superparasitisme**). Les stratégies vont alors varier selon la biologie des espèces : les parasitoïdes grégaires qui pondent donc plusieurs œufs dans un même hôte vont avoir tendance à réduire la taille de leur ponte afin de diminuer la pression de compétition subie par leurs larves (Visser 1990). Au contraire, chez les parasitoïdes solitaires, la femelle va devoir choisir entre, ne pas parasiter l'hôte ou adopter une stratégie de multi ou

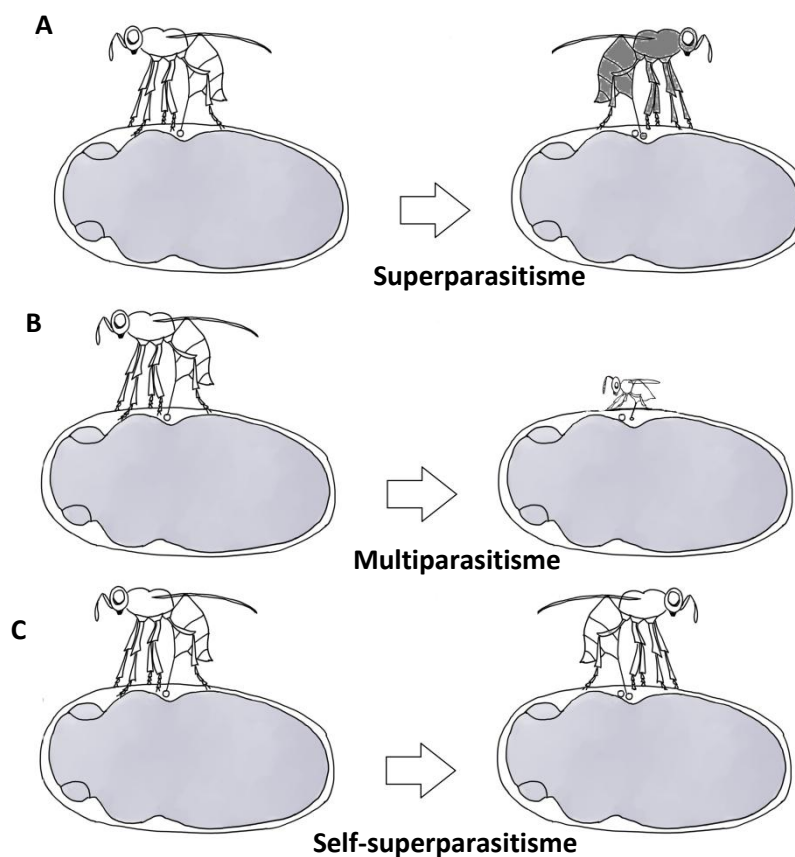


Figure 4 : Figure 4 : Différents cas d'exploitation des hôtes par plusieurs adultes chez les parasitoïdes. A. Deux femelles de la même espèce pondent successivement dans le même hôte, B. Deux femelles d'espèce différentes pondent successivement dans le même hôte, C. La même femelle pond successivement deux fois dans le même hôte. Illustrations D. Poinso.

superparasitisme, longtemps considérée comme non adaptative, chez ces espèces où une seule larve pourra se développer dans l'hôte. Il a toutefois été montré que multiparasitisme et superparasitisme pouvaient être adaptatifs dans certaines circonstances en particulier lorsque la compétition est intense (Van Alphen et Visser 1990, Mackauer et Chau 2001). Pour le superparasitisme, on peut différencier le superparasitisme conspécifique (lorsque les œufs ont été pondus par des femelles

différentes), du **self superparasitisme** où les œufs sont pondus par la même femelle (Yamada et Sugaura 2003, Figure 4).

Par ailleurs, il peut arriver que les femelles parasitoïdes exploitent le même patch d'hôtes. Elles peuvent alors interagir directement et notamment via des comportements agonistiques dans le but de défendre un hôte exploité ou le patch tout entier (Hardy et Blackburn 1991, Field *et al.* 1998). Ces interactions sont souvent asymétriques c'est à dire que l'une des femelles prend rapidement l'avantage sur l'autre, ce qui permet une résolution rapide des interactions sans trop de dommages pour les deux opposantes. Les trois facteurs d'asymétrie sont la capacité intrinsèque de se battre et s'approprier une ressource ("**resource holding potential**" ou **RHP**), la valeur de la ressource perçue par chaque individu ("**resource value**" ou **RV**; Maynard Smith 1974) et le statut des femelles ("résidente" ou "intruse") lors de l'interaction. En effet, l'ordre d'arrivée sur la ressource est un facteur déterminant ; lorsque la femelle "résidente" s'est déjà appropriée la ressource, elle a souvent un avantage dans les interactions avec des femelles "intruses" qui viendraient après elle (Enquist et Leimar 1984, Humphries *et al.* 2006, Mohammad *et al.* 2012). Les facteurs affectant la RHP sont des caractéristiques liées aux capacités compétitives des femelles telles que les armes (présence de mandibules ou d'aiguillon), la taille ou le poids, les individus les plus grand étant avantagés (Andersson & Iwasa 1996, Whitehouse 1997, Humphries *et al.* 2006, Goubault *et al.* 2007b, Archer et Thanzami 2007). Les facteurs influençant la RV peuvent bien sûr être liés à la ressource elle même (plus un hôte va être de bonne qualité, plus les individus vont se battre intensément pour se l'approprier ; Humphries 2006, Chancellor et Isbell 2008) mais vont également dépendre des femelles via leur statut physiologique ou leur expérience (Enquist et Leimar 1987, Brown *et al.* 2006, Brown *et al.* 2007, Dissanayake *et al.* 2009). Par exemple, le nombre d'œufs matures présents dans les ovaires d'une femelle *Gonozius nephantidis* augmente la valeur placée dans la ressource et l'intensité avec laquelle elle va se battre (Stokkebo et Hardy 2000). Le spectre d'hôte des femelles parasitoïdes est un facteur qui a relativement peu été pris en compte dans les études sur la RV et sur l'issue de la compétition par interférence (Mohamad *et al.* 2011). Pourtant, la valeur placée dans la ressource par une femelle qui en est spécialiste devrait être supérieure à celle perçue par une femelle plus généraliste qui, ayant la possibilité de trouver plus facilement une ressource de substitution dans un autre environnement, devrait abandonner le combat plus rapidement. Par ailleurs, les femelles spécialistes subissent une pression de sélection plus importante pour développer des stratégies comportementales leur permettant d'augmenter leur RHP face à leurs compétiteurs plus généralistes afin de s'approprier plus sûrement la ressource commune.

Une autre composante des êtres vivants qui pourrait jouer un rôle considérable sur leurs niches écologiques est l'association avec des partenaires bactériens. Les communautés bactériennes ont été

longtemps considérées comme des boîtes noires car nous n'avions pas les moyens techniques d'étudier la totalité des partenaires présents. Depuis une vingtaine d'années, les techniques permettant de décrire ces communautés bactériennes se sont considérablement améliorées, ce qui a permis de dépasser les limites liées notamment à la culture des bactéries, et une description plus exhaustive de leur diversité (Fukatsu 2012). Il est maintenant reconnu que certains partenaires bactériens ont des effets importants sur leur hôte qui peuvent également modifier les interactions qu'ils entretiennent avec d'autres organismes, comme par exemple la compétition (Patot *et al.* 2012). Ainsi, dans une étude moderne sur les niches écologiques occupées par deux espèces en compétition, il semble essentiel de prendre en compte l'impact des micro-organismes sur chacune de ces espèces. Pour cela la première étape consiste à identifier et décrire la diversité de leur microbiome.

III. Les communautés bactériennes d'insectes

La symbiose au sens large peut être définie comme l'interaction durable entre deux organismes distincts pendant au moins une partie de leur cycle biologique (De Bary 1879), le plus gros étant appelé "hôte" et le plus petit "symbiote". La symbiose a souvent été réduite aux interactions à bénéfice réciproque à cause de l'apparition de ce terme en même temps que le concept de **mutualisme**, qui définit une relation à bénéfice réciproque entre deux organismes distincts (van Beneden 1875). Aujourd'hui, les deux définitions perdurent, on parle de symbiose au sens strict pour définir une relation à bénéfice réciproque et de symbiose au sens large pour parler du concept introduit par Anton de Bary qui inclut des interactions allant du parasitisme au mutualisme. Nous utiliserons ici ce terme dans son sens le plus large.

Parmi tous les types de symbiose au sens large, la symbiose bactérienne est sans doute la plus répandue. Il est aujourd'hui admis que tous les organismes pluricellulaires abritent des bactéries (Hickman 2005). L'association entre les bactéries et les autres organismes est très ancienne puisque la mitochondrie aurait été acquise par les cellules eucaryotes au cours d'une endosymbiose entre une archaebactérie et une alphaproteobactérie (Margulis 1996, Embley et Martin 2006). De la même façon, les plastides des plantes auraient également des origines symbiotiques et proviendraient de plusieurs intégrations successives dans les différentes lignées d'algues (Keeling 2004, Gould *et al.* 2008). La diversité des associations microbiennes, en termes de diversité des partenaires et d'impacts, a mené à l'apparition de la théorie de l'hologénome, qui considère l'hôte et la communauté bactérienne qui lui est associée comme une seule entité appelée holobionte ou symbiocosme (Rosenberg *et al.* 2007).

1. Une communauté

Les communautés bactériennes associées aux êtres vivants peuvent être très simples, avec seulement quelques taxons bactériens représentés : la mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster* compte en moyenne 14 espèces bactériennes dans des populations d'Amérique du Nord (Corby Harris *et al.* 2007). D'autres communautés sont au contraire très complexes : l'être humain héberge entre 500 et 1000 espèces de bactéries différentes (Qin *et al.* 2010). Les insectes sont le groupe d'organismes le plus répandu sur Terre (Basset *et al.* 2012) à la fois en termes de diversité de milieux colonisés et de diversité d'espèces, et cette grande diversité se reflète dans les relations qu'ils entretiennent avec les bactéries. Les communautés bactériennes d'insectes ont également l'avantage pour l'expérimentateur d'être souvent simples avec une dizaine de symbiotes par hôte, même si des contre-exemples existent : les termites hébergent parfois plus de 200 symbiotes différents principalement contenus dans le tube digestif (Hongoh *et al.* 2003, 2005). Longtemps étudiées pour générer de nouveaux insecticides afin de contrôler les populations d'insectes ravageurs, les communautés bactériennes d'insectes ont connu un intérêt croissant ces dernières années du fait de la découverte de leur implication dans la physiologie et/ou le comportement de leurs hôtes (Montenegro *et al.* 2006, Sharon *et al.* 2010). Les écologistes se sont alors intéressés aux facteurs influençant leur composition et leur structure mais peu d'études ont comparé simultanément les communautés bactériennes de plusieurs espèces d'hôtes (Colman *et al.* 2012, Jones *et al.* 2013) et encore moins celle d'insectes impliqués dans des relations interspécifiques de type proies/prédateurs ou hôtes/parasitoïdes. Ces rares études ont montré que c'est principalement la proximité phylogénétique des hôtes qui structure les communautés bactériennes des insectes, le régime alimentaire constituant un facteur de structuration secondaire (Chandler *et al.* 2011, Robinson *et al.* 2009). Les autres facteurs pouvant modifier la communauté bactérienne à l'échelle de l'individu ou de l'espèce sont le stade de développement des individus, l'activité de leur système immunitaire ou des facteurs biotiques (présence d'ennemis naturels) ou abiotiques (pH, température,...) de l'environnement de l'hôte. Ainsi, les communautés bactériennes associées à *D. melanogaster* peuvent être profondément différentes en fonction des zones géographiques d'échantillonnage (Corby-Harris *et al.* 2007).

2. Des partenaires plus ou moins indépendants

Les interactions entre bactéries et hôtes sont définies selon plusieurs paramètres : la localisation de la bactérie, l'impact de cette bactérie sur la fitness de son hôte et la persistance dans le temps de l'association entre la bactérie et son hôte.

Chez les insectes comme chez les autres animaux, les bactéries peuvent se localiser à l'extérieur de l'hôte (ici, sur la surface de sa cuticule) ou dans des milieux plus confinés avec des contacts plus intimes avec les cellules de l'hôte, tels que la lumière du tube digestif, l'hémolymphe voire l'intérieur des cellules. Ces bactéries vont également avoir différents impacts sur leur hôte variant du parasitisme au mutualisme. Elles sont le plus souvent commensales, la bactérie n'étant que transitoirement en contact avec les cellules de l'hôte, profitant de la niche qu'il procure. Les communautés bactériennes associées au tube digestif chez les insectes colonisent un environnement très instable qui est fréquemment perturbé notamment par les différentes mues du développement larvaire et la métamorphose finale qui peut provoquer une élimination quasi complète des bactéries du tube digestif comme montré chez le moustique (Moll *et al.* 2001). Parmi les partenaires bactériens, certains peuvent également être pathogènes pour l'hôte. Les bactéries pathogènes d'insectes sont séparées en deux catégories : les bactéries qui s'attaquent à des hôtes sains et celles décrites comme opportunistes, qui, en se retrouvant au contact des cellules d'individus déjà affaiblis, à la suite d'une blessure par exemple, se multiplient et deviennent pathogènes. La bactérie *Xenorhabdus nematophila* par exemple est hébergée par un nématode entomopathogène dans des vésicules spécialisées où elle n'est pas pathogène. Lors de l'attaque d'un insecte par le nématode,

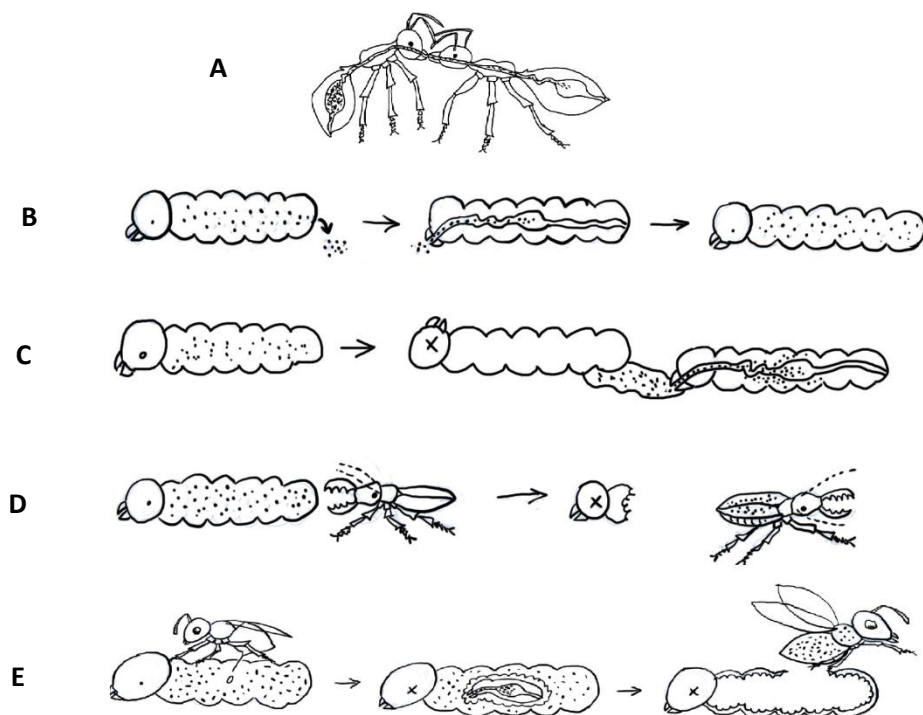


Figure 5: Différentes possibilités de transmission horizontale des partenaires bactériens : A. Trophallaxie ; B. Transmission par la consommation des fèces de l'individu infecté ; C. transmission par la consommation du cadavre de l'individu infecté ; D. Transmission via la prédation de l'individu infecté ; E. Transmission via le parasitisme de l'individu infecté. Illustrations D. Poinso.

cette bactérie est sécrétée dans l'hémolymphe de l'hôte où elle agit comme un immunodépresseur permettant aux nématodes de se développer et conduisant à la mort de l'insecte (Ji et Kim 2004). Cet exemple illustre bien que les bactéries peuvent avoir un impact différent en fonction de l'hôte et de son statut physiologique (Herbert et Goodrich-Blair 2007), ici cette bactérie n'est pas pathogène pour le nématode mais l'est pour les insectes qu'il attaque. Le mode typique de transmission de ces bactéries est un mode de **transmission horizontale** qui décrit l'échange de symbiotes entre deux organismes contemporains avec ou sans la participation d'un vecteur.

D'autres bactéries sont localisées strictement à l'intérieur des cellules de leur hôte, on parle alors d'endocytobiose. Le rapport intime entre les bactéries intracellulaires et leurs hôtes leur ont permis d'accéder aux cellules germinales et ainsi d'être transmises maternellement à la génération suivante directement à l'intérieur de l'œuf. Ce type de transmission est appelée **transmission verticale**. Les bactéries extracellulaires peuvent également être transmises verticalement par la femelle mais souvent par le biais de comportements très spécifique, comme l'aspersion de la surface des œufs avec les excréments (qui contiennent le symbiote) (Kaltenpoth *et al.* 2009 ; Kikuchi *et al.* 2009). On dit alors que la **transmission** est maternelle mais **environnementale** car elle provient d'un stock environnemental de la bactérie hérité de la génération parentale (Gros *et al.* 1990, Figure 5).

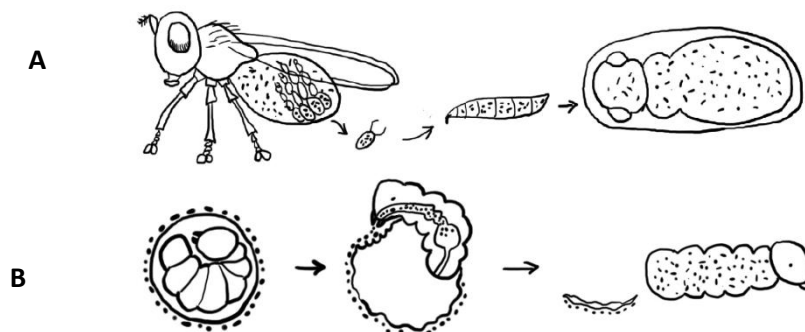


Figure 6 : Différentes possibilités de transmission verticale : A. Transmission transovarienne; B. Transmission via l'enveloppe des œufs. Illustrations D. Poinso.

Les associations bactériennes transmises verticalement, en se pérennisant, constituent un des facteurs majeurs de l'évolution des espèces. La transmission maternelle de ces symbiotes a permis de favoriser l'apparition de phénomènes d'interdépendance rendant, en cas de bénéfice strict sur la fitness, le symbiote obligatoire à l'hôte. On parle alors de symbiotes primaires ou obligatoires (Douglas 1998). Ces bactéries apportent souvent à l'hôte des nutriments essentiels qui ne sont pas disponibles dans son alimentation. C'est le cas de la bactérie *Buchnera aphidicola* pour les pucerons ou de *Wigglesworthia glossinidia brevipalpis*, le symbiote obligatoire des mouches tsé-tsé, *Glossina*

sp. (Douglas 1998, Aksoy 1995). Les symbiotes obligatoires sont souvent localisés dans des cellules spécialisées appelées bactériocytes (Bauman 2005). D'autres bactéries, dites **symbiotes facultatifs**, sont transmises verticalement et pourtant n'ont pas développé ces interactions d'interdépendance avec l'hôte. Elles ont développé des mécanismes permettant leur transmission en offrant des gains de fitness ponctuels. Le complexe de symbiotes facultatifs du puceron du pois a été remarquablement bien étudié et ces études ont montré des impacts positifs des symbiotes sur leur hôte face à des contraintes de l'environnement : *Rickettsiella* sp. a un impact sur la couleur des individus et diminue le taux de prédation et de parasitisme (Tsuchida *et al.* 2010), *Hamiltonella defensa* protège partiellement voire complètement contre les attaques de parasitoïdes (Oliver *et al.* 2003), *Serratia symbiotica* protège *Buchnera aphidicola* des températures élevées (Montlor *et al.* 2002) tandis que *Regiella insecticola* protège contre le champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (Scarborough *et al.* 2005). Toutefois, chaque symbiote a ici également un impact négatif en diminuant la longévité et la fécondité des femelles, l'infection multiple augmentant encore les coûts (Oliver *et al.* 2006). La prévalence de ces bactéries dans les populations naturelles implique donc un compromis entre les bénéfices apportés face aux contraintes environnementales et l'impact négatif sur la fitness pour les individus. Les bactéries dites "manipulatrices sexuels" (*Wolbachia*, *Rickettsia*, *Spiroplasma* ou *Cardinium*) ont développé des mécanismes permettant de diminuer la fitness du sexe non transmetteur : le male-killing, (Hurst *et al.* 1999), la féminisation des mâles (Bouchon *et al.* 1998) ou la parthénogénèse thélythoïque (Stouthamer *et al.* 1990), ou permettant de diminuer la fitness des lignées femelles non infectées : l'incompatibilité cytoplasmique (O'Neill & Karr 1990, Rousset *et al.* 1992, Werren *et al.* 1997). Ces bactéries peuvent également avoir des impacts variés sur les traits d'histoire de vie des individus, par exemple en augmentant ou en diminuant la fécondité et la longévité des individus (Min et Benzer 1997, Bian *et al.* 2013, Brelsfoard et Dobson 2011).

3. Un phénotype étendu pour l'hôte

Le phénotype d'un organisme peut être défini comme tout caractère observable d'un individu résultant de l'expression de ses gènes dans un environnement donné (Johannsen 1909). La communauté bactérienne d'un hôte représente une démultiplication du nombre de cellules mais surtout du nombre de gènes exprimés chez un individu, qui peuvent alors influencer différents aspects du phénotype de l'hôte (Ridley *et al.* 2012). C'est dans ce contexte que le terme de phénotype étendu a été défini par Richard Dawkins (1982). Chaque partenaire bactérien peut alors être considéré comme un "kit de gènes" prêt à l'emploi qui complexifie le rapport entre génotype et phénotype de l'hôte et peut influencer ses capacités d'adaptation à son environnement. L'infection d'individus d'une espèce d'hôte par différents cortèges bactériens pourrait alors modifier suffisamment leurs phénotypes pour leur permettre d'exploiter des micro-niches écologiques

limitant ainsi la compétition intraspécifique. Un phénomène de spécialisation intraspécifique chez l'espèce parasitoïde généraliste *Cotesia sesamiae* a été décrit et les auteurs ont pu le mettre en relation avec l'infection des individus par différentes souches de *Wolbachia* qui est corrélée avec une modification des polyDNA virus des parasitoïdes (Branca *et al.* 2011). Chez le puceron du pois également, la spécialisation à la plante hôte semble être accompagnée par des modifications des communautés bactériennes (Haynes *et al.* 2003, Ferrari *et al.* 2004, Frantz *et al.* 2009). Ainsi, les communautés bactériennes, de par leur instabilité entre les individus ou en fonction des paramètres environnementaux et leur transmission imparfaite entre les générations, vont provoquer une augmentation de la diversité phénotypique au sein des espèces ce qui, dans la théorie de la niche écologique, est sensé favoriser l'exploitation des ressources par un plus grand nombre d'espèces au sein des guildes.

Chez les parasitoïdes, les endosymbiotes ont montré de nombreux impacts sur la physiologie en modifiant notamment la fécondité, la longévité, la capacité de dispersion ou le temps de développement de leur hôte (Stolk & Stouthamer 1996, Fleury *et al.* 2000). Les micro-organismes peuvent également modifier les capacités de détection et de sélection des hôtes par les parasitoïdes (Zchori-Fein *et al.* 2001, Patot *et al.* 2010). Les partenaires bactériens semblent également être impliqués dans la reconnaissance des nids chez les insectes sociaux et pourraient être impliqués dans la reconnaissance de parentèle chez d'autres animaux non sociaux (Lizé *et al.* 2013). Par exemple, chez *Gonozius legneri*, un parasitoïde présocial, le développement de larves sur le même hôte, même si elles ne sont pas apparentées, semble diminuer l'agressivité des interactions entre individus une fois adultes (Lizé *et al.* 2012). Les traits écologiques modifiés par les partenaires bactériens sont très importants dans les stratégies d'exploitation des patches d'hôtes et le partage des ressources entre les individus ou entre les espèces. Les bactéries pourraient alors être des acteurs discrets mais majeurs dans la compétition entre espèces.

Prédateurs et parasitoïdes exploitent différemment des ressources similaires qu'ils peuvent parfois être amenés à se partager. Alors que les prédateurs utilisent ces ressources pour leur nourriture et les rendent inutilisables pour les autres membres de la guildes peu de temps après la première attaque, les parasitoïdes les utilisent pour permettre le développement de leur descendance et les ressources restent utilisables par d'autres organismes pendant un certain temps (Losey *et al.* 1997, Schmidt *et al.* 2003). Dans leur stratégie d'exploitation des ressources, les parasitoïdes ont de ce fait tendance à être plus exigeants que les prédateurs car l'hôte qu'ils parasitent doit être d'une qualité suffisante pour permettre à la larve de parasitoïde de se développer alors que pour les prédateurs, toute proie consommée augmente la fitness, même si les proies de bonne qualité ou plus grosses sont plus bénéfiques. Ainsi, même spécialistes d'une espèce, les prédateurs pourront se montrer

relativement opportunistes quant au stade qu'ils attaquent, préférant souvent des proies plus petite ou de la même taille qu'eux car moins dangereuse à attraper et consommable rapidement alors que les parasitoïdes vont choisir les hôtes leur offrant les meilleures chances de descendants (Charnov et Skinner 1984, Sinclair *et al.* 2003). Chez certains parasitoïdes, les adultes sont également prédateurs des stades immatures de leurs hôtes. Ces insectes vont donc être en compétition avec un certain nombre d'espèces pour la consommation des proies et également interagir avec d'autres compétiteurs pour le parasitisme des hôtes voire avec des insectes qui comme eux partagent le fait d'être prédateur et parasitoïde de leur hôte. Il paraît donc intéressant d'étudier l'impact de la compétition sur les stratégies d'exploitation des ressources et les mécanismes comportementaux permettant à ces espèces de se maintenir dans leur environnement lorsque la compétition est intense.

IV. Objectif global de la thèse

Dans ce travail de thèse, nous avons voulu mettre en évidence des mécanismes comportementaux qui pourraient permettre à deux espèces présentant les mêmes stratégies d'exploitation des ressources mais avec des degrés de spécialisation à l'hôte différents, de partager ces ressources communes à chaque stade de développement et de coexister dans le milieu naturel. Plus particulièrement nous avons voulu étudier l'impact de la compétition directe entre larves et entre adultes sur le comportement des deux espèces et sur l'issue de la compétition. Enfin, nous avons également décrit les communautés de partenaires bactériens des deux compétiteurs, comme un préalable à l'étude de l'impact potentiel du microbiome dans la compétition.

Après vous avoir brièvement présenté les modèles biologiques que nous avons étudié au cours de cette thèse, je vous présenterai plus en détail les expériences qui ont été menées chez ces deux espèces originales de parasitoïde en compétition.

Chapitre 2 : Matériel biologique et objectifs de la thèse

I. les modèles biologiques

1. L'hôte, *Delia radicum*

Delia radicum, aussi appelée familièrement la mouche du chou, est un diptère de la superfamille des Muscidae et de la famille des Anthomyiidae (Pont 1981).

Répartition et plantes hôtes

Cette espèce est répandue sur toute la région holarctique tempérée, c'est à dire la partie nord du globe entre 35° et 60°N. Elle est présente en Europe, en Asie, en Afrique du Nord et en Amérique du Nord où elle a été introduite au XIXème siècle à partir d'une population issue d'Europe de l'Ouest (Biron 2000).

Delia radicum réalise son développement aux dépens des racines des plantes de la famille des Brassicacées. Cette famille englobe des plantes sauvages telle que l'Alliaire officinale (*Alliaria officinalis*), la bourse-à-pasteur (*Capsella bursa-pastoris*) ou la monnaie du pape (*Lunaria annua*) mais également de très nombreuses plantes d'intérêt agronomique parmi lesquelles les différentes espèces de choux (*Brassica oleracea*), le radis (*Raphanus sativus*), le navet (*Brassica rapa* subsp. *rapa*), le colza (*Brassica napus* subsp. *napus*), le rutabaga (*Brassica napus* subsp. *rapifera*) ainsi que différentes espèces de moutarde. A l'heure actuelle, on connaît encore très mal la diversité des plantes attaquées par la mouche du chou parmi les espèces sauvages. Par contre, elle est capable de se développer sur l'ensemble de la gamme des Brassicacées cultivées, elle est donc décrite comme une espèce spécialiste oligophage et est considérée comme un ravageur majeur des Brassicacées dans le monde (Coaker et Finch 1971). De ce fait, elle fait l'objet de nombreuses études pour améliorer le contrôle des populations.



Figure 2 : Œufs de *Delia radicum* au pied d'un plant de brocoli. Photo : Sonia Dourlot.

Cycle biologique

Le cycle biologique de la mouche commence lorsque les œufs sont pondus au collet d'une plante hôte. Ces œufs sont allongés et blancs, et mesurent environ 2 mm de long. Ils vont mettre entre 2 et 14 jours à éclore en fonction de la température et de l'humidité de l'environnement (De Wilde 1947, Neveu et al. 1997; Figure 1). On distingue ensuite trois stades larvaires chez cette espèce. A l'éclosion, la larve de premier stade se dirige grâce à des stimuli olfactifs et gustatifs vers la partie souterraine de la plante où elle s'attaque aux racines secondaires de la plante, ce stade dure environ 4 jour à 20°C (Coaker et Finch 1971). Elle commence ensuite à pénétrer à l'intérieur de la racine de la plante. Au second stade, la larve grossit vite en se développant à l'intérieur de la racine, ce stade dure 6 jour à 20°C. Au troisième stade larvaire, la larve mesure en moyenne 8 mm de long et est très mobile, elle finit de se nourrir avant de quitter la racine et de s'enfoncer dans le sol pour se nymphoser. La durée de ce stade est très variable et dure entre 10 et 20 jours (Figure 2).



Figure 3 : Racine d'un chou chinois, *Brassica rapa subsp. pekinensis*, attaquée par des larves de la mouche du chou, *Delia radicum*. Photo : Mikaël Bili

La larve se nymphose dans une enveloppe, de forme sub-elliptique appelée puparium. Dans la suite du document, c'est le mot pupes qui sera employé pour désigner l'ensemble puparium + nymphe. Les pupes sont souvent regroupées et forment de petits agrégats à proximité de la racine des plants sur lesquels elles se sont développées (Mukerji et Harcourt 1970). D'une couleur blanchâtre au début de la nymphose, les pupes brunissent au cours du temps. C'est grâce à ce stade plus résistant aux variations de température que *D. radicum* peut diapauser ce qui lui permet de résister à la saisonnalité de la région holarctique. La diapause hivernale est induite par une exposition des larves à des photopériodes inférieures à 12h couplées à des températures inférieures à 15°C. La diapause estivale, elle, correspond à un arrêt du développement lorsque les températures dépassent 20°C. On observerait ainsi une augmentation de la proportion d'individus d'estivants dans une population avec l'accroissement des températures (Missonnier 1963).

Après une période de développement variable et fortement dépendante des conditions environnementales, les adultes émergent des puparium. La première génération émerge de mars à mai en fonction des conditions hivernales. Les adultes se nourrissent du pollen et du nectar des fleurs et s'accouplent dans les premiers jours après l'émergence. Les femelles vont ensuite détecter les sites de pontes, d'abord à longue distance grâce aux composés organiques volatils émis par les plantes, qui sont associés ensuite à plus courte distance à des stimuli visuels (tels que la couleur ou la taille des feuilles) pour sélectionner la plante où elles atterrissent (Kostal et Finch 1994, Degen et Stadler 1996). Elles descendent ensuite au collet de la plante pour pondre. Les œufs sont pondus en agrégats dans les interstices du sol à proximité de la plante ou directement à son collet. La longévité potentielle d'une femelle est d'environ 45 jours pendant lesquels elle est capable de pondre 376 œufs en conditions de laboratoire (Coaker et Finch 1969, Figure 3).



Figure 4 : Mâle *Delia radicum* sur une feuille de brassicacées.
Photo : Jean Luc Kerveadou

Les dégâts

C'est au cours des différents stades larvaires que la mouche du chou peut causer d'importants dégâts aux plantes. Les plants les plus jeunes sont les plus sensibles et une infestation précoce des champs peut se traduire par des pertes économiques importantes pouvant aller jusqu'à 90% de mortalité dans une culture non protégée (Finch, 1989). Par ailleurs, la mouche du chou cause des dégâts aux racines légumières telles que les radis ou les navets, les rendant difficilement commercialisables.

2. Les staphylins parasitoïdes

Aleochara bilineata et *Aleochara bipustulata* sont deux coléoptères de la famille des Staphilinidae et du sous-genre *Coprochara* (Mulsant et Rey, 1874). Le genre *Aleochara* comprend près de 400 espèces, réparties sur l'ensemble du globe et qui seraient toutes parasitoïdes de diptères cyclorraphes au stade larvaire (Maus et al. 1998).

Aire de répartition et spectres d'hôtes

Les deux espèces se répartissent sur toute la région holarctique. Leurs aires de répartition sont toutefois un peu différentes. *Aleochara bipustulata* est retrouvé en Europe, en Afrique du Nord et du Moyen Orient au Nord Est de l'Asie et il serait présent au nord de l'Inde (Samin et al. 2011). *Aleochara bilineata* est également retrouvé en Europe et dans le Nord de l'Asie ainsi qu'en Amérique du Nord où il a été introduit en même temps que *D. radicum* (Klimaszewski 1984).

Le style de vie "parasitoïde" est apparu indépendamment chez plusieurs familles de coléoptères : les Carabidae, les Meloïdeae, les Rhipiphoridae et les Staphylinidae (Eggleton 1992, Godfray 1994). Chez les Staphylinidae, seules les espèces du genre *Aleochara* semblent être parasitoïdes. L'espèce *A. bilineata* est parfois décrite comme une espèce généraliste car en tant que prédateur, elle est relativement opportuniste ; toutefois en tant que parasitoïde, cette espèce est spécialiste des diptères du genre *Delia* qui comprend plusieurs espèces de diptères phytophages ou saprophages. *Aleochara bipustulata* est, en revanche, plus généraliste car il peut également parasiter d'autres diptères nécrophages ou coprophages tels que *Piophilidae casei*, *Musca domestica*, *Lucilia sericata* ou *Ravinia pernix* (Maus et al. 1998).



Figure 5 : Œufs d'*Aleochara bilineata* quelques heures avant l'éclosion. Photo Sonia Dourlot.

Cycles biologiques comparés des deux espèces

Pour les deux espèces, les œufs sont pondus à proximité des plantes au pied desquels se trouvent des hôtes (Figure 4). Ils sont ellipsoïdes, d'un blanc opaque juste après avoir été pondus et deviennent plus brun rosé après plusieurs jours. Il semble que les œufs des deux espèces soient de

taille équivalente (Colhoun 1953, Fuldner 1960). Les œufs éclosent en moyenne après 6 et 7,2 jours environ respectivement pour *A. bilineata* et *A. bipustulata* (Fournet et al. 2000).

On compte trois stades larvaires chez les deux espèces qui ne peuvent pas être distingués l'une de l'autre pendant ces différents stades (Figure 5 à 8). La larve de premier stade est mobile et de forme campodéiforme. Après éclosion elle part à la recherche de l'hôte dans lequel elle va se développer en tant que parasitoïde solitaire. La taille de la larve est très variable (entre 0,7 et 1,6 mm) et les larves de *A. bilineata* sont en moyenne plus grandes que celle de *A. bipustulata* (Colhoun 1953, Fuldner 1960). La mortalité avant la pénétration dans l'hôte est supérieure chez les larves de premier stade de *A. bipustulata* que chez les larves de premier stade de *A. bilineata* (Fournet et al. 2000). Les larves peuvent vivre jusqu'à 10 jours mais leur capacité à parasiter un hôte commence à diminuer après 96 heures (Fournet, communications personnelles, Royer et al. 1999). La larve est armée de puissantes mandibules et son dernier segment abdominal présente un organe rétractile appelé pygopode. Ce dernier lui permet d'adhérer à la paroi du puparium pour

pouvoir forer un trou avec ses mandibules. La larve pénètre ensuite à l'intérieur du puparium, blesse la nymphe de mouche et se nourrit de l'hémolymphe qui s'écoule de cette blessure (Colhoun 1953). Après avoir commencé à se nourrir, la larve excrète une substance visqueuse par l'anus qui lui permet de reboucher son trou d'entrée. Le premier stade larvaire dure environ 8 jours. Ce "bouchon" serait également impliqué dans la discrimination d'hôtes déjà parasités par les larves de premier



Figure 5 : En haut : larve de premier stade *Aleochara bilineata* perçant un trou dans le puparium de son hôte. En bas : Larve de premier stade *Aleochara bipustulata* pénétrant à l'intérieur de l'hôte. Photos Sonia Dourlot.



Figure 6 : Larve de premier stade *Aleochara bipustulata* après pénétration dans l'hôte. Photo Sonia Dourlot.

stade (Lizé et al. 2010). Ainsi, il a été montré que les larves des deux espèces étaient capables de discriminer les pupes parasitées des pupes saines et que les larves *A. bilineata* acceptaient plus souvent un hôte occupé par une larve hétérospécifique que conspécifique tandis que les larves *A. bipustulata* acceptaient autant chaque hôte (Fournet et al. 1999).

Pendant le deuxième et le troisième stade larvaire, la larve de forme éruciforme n'est plus mobile car ses pattes se sont réduites (Fuldner 1960). Elle perd également ses puissantes mandibules en forme de faucille remplacées par des mandibules plus petites en forme d'entonnoir plus adaptées à aspirer l'hémolymphe de l'hôte (Fuldner 1960). Pour pouvoir se nymphoser à l'intérieur du puparium, la larve de troisième stade doit finir de consommer entièrement la nymphe de mouche qui s'y trouve. Il a ainsi été montré que le parasitisme d'un hôte trop gros pouvait diminuer le succès parasitaire des larves (Jonasson 1994).



Figure 7 : A gauche : Larve de deuxième stade *Aleochara bipustulata* se nourrissant sur la nymphe extraite du puparium. A droite : Larve de troisième stade *Aleochara bipustulata* qui a fini de consommer la nymphe de mouche. *Photos Sonia Dourlot.*

D'abord de couleur blanche, la cuticule de la nymphe se pigmente au fur et à mesure et finit par devenir brune avant de devenir noire : la couleur de l'adulte. Le temps de développement entre le premier stade larvaire et l'adulte est d'environ 31 jours pour *A. bilineata* et est légèrement plus long



Figure 8 : Nymphe *Aleochara bipustulata* en début de pigmentation extrait du puparium de son hôte. *Photo Sonia Dourlot.*

pour *A. bipustulata* avec environ 35 jours (Fournet et al. 2000). La phase de nymphose permet à ces deux espèces de la même façon qu'à leur hôte de supporter la saisonnalité de la région holarctique même si des individus *A. bipustulata* semblent avoir été observés hivernant sous la forme d'adultes libres (Fuldner 1960). Il est plus probable que *A. bipustulata* hiverne majoritairement sous la forme de nymphe. En revanche, *A. bilineata* semble hiverner principalement sous la forme de larve de premier stade (Fuldner 1960). Ainsi, les premiers adultes *A. bipustulata* émergent plus précocement que les adultes *A. bilineata* au printemps (Ahlgren - Olsson 1994). Ils sont observés dans les champs quelques jours après l'apparition des premiers adultes de *D. radicum* (Fuldner 1960, Bromand 1980).



Figure 9 : A gauche : Adulte *Aleochara bipustulata*. A droite : Adulte *Aleochara bilineata*. Photos : Sonia Dourlot.

Les adultes des deux espèces sont d'un noir brillant, fusiformes avec les pattes marron foncé. Les élytres sont courts pour les deux espèces et chez *A. bipustulata* présentent des taches rougeâtres pouvant être plus ou moins brunes ou orangées bien délimitées (Figure 9). Ces critères de coloration des élytres peuvent être plus ou moins fiables aussi l'observation de soies sur le bord postérieur du sixième tergite et sternite abdominal, des organes génitaux mâles et femelles ou l'utilisation d'outils moléculaires permettent de les différencier avec certitude (Langlet et al. 1997). La taille des adultes est variable et dépend directement de la taille de l'hôte dans lequel il s'est développé indépendamment du sexe de l'individu (Langlet et al. 1998). Les adultes *A. bilineata* sont légèrement plus grands que les adultes *A. bipustulata* et les femelles *A. bilineata*, même si elles ont la même taille que les mâles à l'émergence ont tendance à prendre du poids plus rapidement au début de la période d'oviposition (De Wilde 1947, Colhoun 1953, Fuldner 1960, Langlet et al. 1998).

L'accouplement peut se faire sur les sites d'émergence avant même la recherche de nourriture (Fuldner 1960). Les femelles adultes sont capables de pondre deux jours après l'émergence (Langlet et al. 1997). *Aleochara bilineata* semble être capable de détecter les plantes infestées grâce aux composés volatils qu'elles émettent lorsqu'elles sont attaquées par des diptères phytophages (Ferry et al. 2007).



Figure 10 : A gauche : Adultes *Aleochara bilineata* s'accouplant sur une racine de navet. A droite : Femelle *Aleochara bipustulata* déposant un œuf à proximité de la racine d'un plant attaqué par la mouche du chou, *Delia radicum*. Photos Sonia Dourlot.

Les adultes se nourrissent des œufs et des larves de premier stade de leurs hôtes; un couple d'*Aleochara* serait capable de consommer plus de mille œufs de *D. radicum* au cours de sa vie et les femelles sont capables d'en manger deux fois plus que les mâles mais il n'y aurait pas de différences entre les deux espèces (Fournet, 2000). Les adultes pondent leurs œufs à proximité des plantes infestées par des diptères où se trouvent des hôtes potentiels (Figure 10). Des études en laboratoire ont montré que la fécondité journalière des femelles A.



Figure 11 : Adulte *Aleochara bipustulata* s'attaquant à une larve de deuxième stade de la mouche du chou, *Delia radicum*. Photo Sonia Dourlot.

bipustulata était supérieure à celle des femelles A. *bilineata* avec respectivement en moyenne 11 et 8.5 œufs. Par ailleurs, les femelles A. *bipustulata* peuvent vivre près d'un mois de plus que A. *bilineata* au laboratoire (169 jours vs 133 jours ; Fournet et al. 2000). Au niveau de l'attraction et de la sélection du site de ponte, aucune étude n'a été menée simultanément sur les deux espèces. Chez

A. bipustulata, il a été montré que les femelles étaient attirées à distance par les composés volatils émis par les racines attaquées par les larves de diptères mais qu' à de plus courtes distances, les femelles étaient davantage attirées par l'odeur du passage des larves de leur hôte (Goubert et al. 2012). Chez *A. bilineata*, il a été montré que les femelles étaient capables de sélectionner leur site de ponte et d'adapter la taille de leur ponte en fonction du statut d'infestation de la plante, de la présence d'hôtes et du statut parasitaire de ces hôtes (Fournet et al. 2001).

II. Objectifs la thèse

Les études sur la biologie des deux espèces ont montré que les traits d'histoire de vie semblaient avantager *A. bipustulata* puisque les femelles en plus d'avoir un spectre d'hôtes plus large vivent plus longtemps, pondent plus d'œufs, émergent plus tôt dans la saison et en général sont retrouvées en plus grand nombre dans les parcelles cultivées de Brassicacées (tableau 1). Il semble ainsi étonnant que ces deux espèces proches coexistent dans le milieu naturel malgré leurs stratégies semblables d'exploitation de la ressource et le fait qu'à notre connaissance ces deux espèces soient principalement retrouvées sur des hôtes communs : les diptères du genre *Delia*. Pourtant, malgré la pression de compétition que subit l'espèce spécialiste, *A. bilineata* ne semble pas être exclue par son compétiteur ce qui suggère que des mécanismes sont en place pour que ces espèces coexistent dans le même environnement et partagent leur ressource commune. Du fait de leur différence partielle de spectre d'hôtes, ces deux espèces sont d'excellents modèles pour étudier la relation entre capacités compétitives et spécialisation à l'hôte pour chaque niveau de compétition (larvaire et adulte). Ce travail se justifie d'autant plus que les coléoptères parasitoïdes ont été relativement peu étudiés dans le cadre de la compétition malgré le fait qu'ils présentent les particularités (i) d'être également prédateurs des stades immatures de leur hôte au stade adulte et (ii) d'avoir des larves de premier stade mobiles ce qui modifie les niveaux de compétition avec une possibilité de compétition extrinsèque entre les larves de premier stade. A ce jour, les travaux de Fournet (2000b, 2004), de Lizé (2007) et une étude sur la compétition intrinsèque entre *A. bilineata* et *Trybliographa rapae* (Reader et Jones 1990) constituent les seules études sur la compétition engageant des coléoptères parasitoïdes.

Dans une première partie, nous avons étudié la compétition extrinsèque chez les femelles adultes des deux espèces et plus précisément les réactions comportementales induites par la présence de compétiteurs. Dans une première expérience, nous avons mesuré l'impact de la présence de différents insectes (compétiteurs ou non) sur le nombre d'œufs de *D. radicum* consommés par les femelles *A. bilineata* et sur l'exploitation de site de ponte en situation de choix et de non choix. Dans une seconde expérience, nous avons observé le comportement des femelles lorsqu'elles ont résidé pendant un certain temps dans un site de ponte avec ou sans hôtes et qu'elles sont mises en compétition avec des femelles conspécifiques ou de l'autre espèce. Nous avons plus particulièrement identifié les modifications comportementales chez les femelles de l'espèce spécialiste, *A. bilineata*, car d'après nos hypothèses, c'est l'espèce qui à priori subit la plus grande pression de sélection en faveur de l'adaptation de son comportement à la présence de son compétiteur abondant.

Dans une seconde partie, nous avons déterminé l'issue de la compétition larvaire entre les deux espèces lorsque les larves de premier stade prospectent simultanément à proximité d'un hôte en même temps afin de déterminer si une espèce domine l'autre dans la compétition larvaire. Du fait que le délai entre les attaques des parasitoïdes hyménoptères modifie l'issue de la compétition intrinsèque, nous avons ensuite mesuré l'impact d'un délai de 24h entre l'arrivée des larves afin de quantifier l'effet de ce facteur dans la compétition larvaire entre nos deux espèces de coléoptères.

Enfin, dans une **dernière partie**, nous avons décidé d'explorer de nouvelles pistes pour mettre en évidence les différences pouvant exister entre les deux espèces de coléoptères, en étudiant une partie souvent négligée de leur niche : les partenaires microbiens symbiotiques au sens large. Nous avons donc décrit et comparé les communautés bactériennes portées par les deux espèces de coléoptères et pour ajouter plus d'intérêt à ce travail, nous y avons également intégré une partie du réseau trophique dans lequel s'insèrent nos deux espèces : leur hôte commun principal, *D. radicum* et un autre parasitoïde, hyménoptère, parasitant également cet hôte, *Trybliographa rapae*. Nous avons alors cherché les facteurs majeurs influençant la structuration des communautés bactériennes au sein de ce réseau trophique et identifié des symbiotes susceptibles de modifier les traits d'histoire de vie de leur hôte, et donc potentiellement la compétition entre nos deux espèces d'étude.

Traits écologiques		<i>A. bilineata</i>	<i>A. bipustulata</i>
Spectre d'hôte		spécialiste (1 genre)	généraliste (plusieurs genres différents)
Adultes	Taille des populations	+	+++
	Fécondité journalière moyenne (œufs/jour)	8,5	11
	Longévité maximale en laboratoire (jours)	133	169
	Emergence sur le terrain comparée	Plus tardive	Plus précoce
	Discrimination des compétiteurs	??	??
	Compétition par exploitation	oui	oui
	Compétition par interférence	??	??
	Prédation intraguilde	cannibalisme et prédation intraguilde	??
Larves	Stratégie d'exploitation des hôtes	idiobionte ectoparasitoïde	idiobionte ectoparasitoïde
	Temps de développement (jours)	31	35
	Diapause	larve de premier stade	nymphe
	Discrimination des compétiteurs	interspécifique/parentèle	hôte parasité/??
	Issue compétition interspécifique	??	??
	Communautés bactériennes	??	??
	Partenaire bactérien identifié	<i>Wolbachia</i>	<i>Wolbachia</i>

Tableau 1 : Bilan simplifié de l'état des connaissances sur *Aleochara bilineata* et *A. bipustulata* au début de cette thèse (seuls les traits pertinents en termes de compétition sont listés).

Chapitre 3 : La compétition par interférence entre femelles adultes

Présentation du Manuscrit 1 :

**Female contests and competitor-driven clutch size adaptation
in a specialist coleopteran parasitoid**

(En préparation pour *Animal Behavior*)

Lorsqu'un organisme exploite une ressource, il arrive fréquemment qu'il rencontre des compétiteurs. Dans ce cas, la théorie suggère que les individus devraient modifier leurs comportements en fonction de l'intensité de la compétition et la nature des compétiteurs (conspecifics ou hétérospécifiques). Ainsi la compétition par interférence a été étudiée chez une grande variété d'organismes et notamment chez les hyménoptères parasitoïdes, chez qui on a pu observer des choix comportementaux permettant d'optimiser leur valeur adaptative. Toutefois, très peu d'études existent sur les coléoptères parasitoïdes, malgré leur mode de ponte original (dans le milieu et non pas directement dans l'hôte). Dans cette expérience, nous avons observé les modifications comportementales induites chez les femelles des deux coléoptères parasitoïdes *A. bilineata* et *A. bipustulata* par la présence de femelles conspecifics et hétérospécifiques lors de l'exploitation d'un patch d'hôtes. Les hypothèses que nous formulons dans cette étude étaient que l'espèce généraliste *A. bipustulata* représente une forte proportion de la pression de sélection due à la compétition subie par l'espèce spécialiste, qui pourrait développer des adaptations comportementales à sa présence. Nous avons observé la taille des pontes et le niveau de prédation exercés par les femelles du spécialiste *A. bilineata* lorsqu'elles ont le choix entre deux sites de ponte présentant des modalités de compétition différentes. Nos résultats démontrent effectivement une adaptation de *A. bilineata* à la présence de la compétition, avec une réduction de la ponte y compris en présence de compétiteurs généralistes. Dans un second temps, nous avons observé les comportements agonistiques de femelles adultes lorsqu'elles rencontrent un compétiteur conspecific ou hétérospécifique dans un site de ponte qu'elles ont pu explorer et exploiter pendant 24 heures. Comme attendu, les femelles *A. bilineata* résidentes ont montré une agressivité supérieure aux intruses, et cette agressivité était modulée en fonction de l'espèce compétitrice chez le spécialiste (plus grande agressivité vis à vis du compétiteur le plus dangereux à l'état larvaire, à savoir sa propre espèce). Ces résultats sont discutés en termes de choix optimaux réalisés par les femelles et leurs impacts sur la coexistence des deux espèces.

Female contests and competitor-driven clutch size adaptation in a specialist coleopteran parasitoid

Bili M.^{1,3}, Cortesero A.M.^{1,3}, Goubault M.², Poinot D.^{1,3}

¹ Université Rennes 1, UMR1349 IGEPP, F-35000 Rennes, France

² Institut de Recherche sur la Biologie de l’Insecte, Unité Mixte de Recherche CNRS 6035, Université François Rabelais de Tours, 37200 Tours, France

³ Université Européenne de Bretagne, France

Corresponding author:

Mikaël Bili

mail: mikael.bili@univ-rennes1.fr

tel: (+33)02.23.23.52.25

En préparation pour *Animal Behaviour*

Abstract

Interference competition is widespread among animals like mammals, birds or insects. Parasitoids are insects that feed and develop at the expense of other arthropods, which they kill in the process. The effects of competitive interactions on feeding, behavior and oviposition have been widely studied in hymenopteran parasitoids. However, these questions have received very limited attention in other groups of parasitoids such as coleopterans despite the fact that they exhibit very distinct biological traits in nutrition (parasitoid beetles are predators) and egg laying (beetles do not have piercing ovipositors and lay their eggs at some distance from their hosts). Here, we studied the impact of the presence of competitors on clutch size, predation rate and aggressive behavior of females of the rove beetle *Aleochara bilineata*, a specialist coleopteran parasitoid of dipteran pupae. *Aleochara bilineata* females compete for hosts with conspecifics but also with females of *Aleochara bipustulata*, a more generalist and more abundant parasitoid species. In laboratory choice experiments, *A. bilineata* females laid more eggs in sites without competitors than in sites where conspecific or heterospecific competitors were present. Moreover, when given the choice, *A. bilineata* females laid more eggs in presence of heterospecific competitors than in presence of conspecific competitors. *Aleochara bilineata* females displayed aggressive behaviors when encountering competitors in oviposition sites where they had already spent 24 hours. Intraspecific contests were more intense than interspecific ones. Aggressive behaviors could not be related to egg load or to the number of larvae found at the end of the experiments. The adjustment of behaviors and oviposition site choices are discussed in terms of the optimal choices made by specialist females and their coexistence with a more abundant and generalist competitor.

Keywords: Parasitoids, host range, interference competition, oviposition site choices.

Introduction

Interspecific competition is a strong evolutionary force driving the composition and diversity of guilds (Schoener 1983). To coexist, species must share resources and previous studies have revealed several mechanisms allowing them to do so, such as spatio-temporal resource partitioning, ecological character displacement or resource spectrum differences (MacArthur 1972, Brown & Wilson 1956, reviewed in Dayan & Simberloff 2005). The investment of species in competitive abilities is strongly influenced by their capacity to i) find resources in other environments (i.e. their dispersal ability) and ii) find alternative resources in the same environments (i.e. their degree of specialization) (Tillman 2000). For a given dispersion ability, specialist species (exploiting a narrow range of resources and environments) are more affected by competition than generalist species (which can use a larger range). Competitive abilities should have been selected for in specialists, because they have fewer options to find alternative environments or resources. In addition, the abundance of a generalist competitor is predicted to greatly amplify the asymmetry of competition and the strength of selective forces borne by specialist species (Vasquez *et al.* 2007).

Parasitoids are insects that complete their larval development to the detriment of a single arthropod host, which they kill in the process (Eggleton & Gaston 1990). In parasitoids, competition may be extrinsic (i.e. between free ranging adults) or intrinsic (larval competition inside the host) (De Moraes *et al.* 1999). Hosts represent a limited resource for which females must compete to lay their eggs. Females compete both indirectly when they exploit quantity-limited resources and then restrict exploitation by other individuals (i.e. exploitative competition) or directly when competitors meet during the exploitation of a common resource (i.e. interference competition) (Birsch 1957). Contrary to predators, hosts parasitized by parasitoids remain available for competitors for a time that varies depending on parasitoid species and parasitoid females may increase investments to avoid destruction of their clutch. Consequently, when foraging in host patches and encountering competitors, Optimal Foraging Theory predicts that parasitoid females should adapt their behavior such as host patch exploration, exploitation or investment in each clutch to conserve the best fitness and increase the probability of success of their progeny (Charnov 1976, Goubault *et al.* 2005, Le Lann *et al.* 2008, 2011, 2012).

Several studies have shown that encounters with competitors can influence clutch size both in predators and parasitoids (Agarwala *et al.* 2003, Visser *et al.* 1998). In predators, encountering both conspecific and heterospecific competitors often decreases clutch size but all heterospecific species do not induce this effect; probably depending of the strength of interactions between species (Taylor *et al.* 1998, Agarwala *et al.* 2003). Chemical cues indicating previous presence of competitors can also

induce a reduction of clutch size depending on age and experience of predator females (Ruzicka 1994, Frechette *et al.* 2004, Oliver *et al.* 2006). In parasitoids, modification of clutch size in response to competitor presence depends on the biology of the species studied. Solitary parasitoids increase their clutch size and self-superparasitized hosts more often while gregarious parasitoids tend to decrease their clutch size to limit sibling competition (Visser *et al.* 1998, Yamada & Sugaura 2003).

In predators, level of predation is generally assumed to depend on the number of prey and impact of presence of competitors on the level of predation was mostly studied in patchily distributed resources predators such as aphid predators (Lucas *et al.* 2002, Agarwala 2003). As for oviposition, presence of competitors frequently decreases the number of aphids eaten by females depending of species and stages of heterospecific competitors (Lucas *et al.* 2002).

Encountering competitors during the exploitation of resources can also induce contests between animals. Animal contests are widespread among both vertebrates and invertebrates, ranging from non contact displays to lethal aggressions (Huntingford *et al.* 1987). Three categories of factors influence aggressiveness of female contests. First, the resource holding potential (RHP), which includes all factors attributed to the competitive abilities of individuals such as their size, weight or weapons (sting and mandibles) (Whitehouse 1997, Riechert 1998, Archer and Thanzami 2007, Andersson & Iwasa 1996, reviewed in Hardy & Briffa 2013). Second, the resource value (RV) which is the value that each competitor places into the resource and which could influence parasitoid motivation (Enquist & Leimar 1987). This factor could be driven by the quality of the host such as its size or physiological state (because healthy or large hosts are often more valuable, Humphries 2006), but it can also depend on female parameters such as past experiences or the number of mature eggs in their ovaries which could increase their motivation to fight for the patch (Enquist & Leimar 1987, Goubault & Decuignière 2012, Stokkebo & Hardy 2000, Mohamad *et al.* 2010). Finally, the order of arrival on the patch greatly influences the outcome of contest : "owners" (females already present in host patches) usually win contests against "intruders" (females arriving after them) (Mohamad *et al.* 2012).

Despite the fact that host spectrum could strongly influence the resource value attributed to suitable hosts and the motivation of females (specialists should perceive a higher RV than generalists), it was studied only in one model of parasitoid in competition (Mohamad *et al.* 2011). Moreover, since hymenopteran species represent almost 80% of parasitoid diversity, extrinsic competition has only been studied in this order. Contests have been mostly studied in bethylid wasps (Hardy & Blackburn 1991, Petersen & Hardy 1996, Stokkebo & Hardy 2000, Humphries *et al.* 2006) even if contests have been described in other families more recently (Goubault *et al.* 2007a, Mohamad *et al.* 2010, 2011).

Female contests in coleopteran parasitoids have never been described and studied. A particular originality of our biological model is that *Aleochara* is both a predator and a parasitoid of its host, which means that by defending a patch against competitors, females can secure at the same time hosts for their offspring and food resources for themselves

Aleochara bilineata (Gravenhorst) (Coleoptera: Staphylinidae) is a ground-dwelling parasitoid of dipteran pupae including the cabbage root fly *Delia radicum* L. (Diptera: Anthomyiidae) which is a pest of brassicaceous crops (Maus *et al.* 1998). Unlike hymenopterans, coleopterans do not have a piercing ovipositor to lay their eggs inside the host. Accordingly, they lay their eggs in locations that are likely to harbour hosts and the mobile first instar larvae, hatching a few days later, search for the hosts where they will develop as solitary parasitoids. In brassicaceous fields in Brittany, *A. bilineata* compete for parasitism of pupae with a closely related species, *Aleochara bipustulata*. While *A. bilineata* is a specialist parasitoid of cyclorrhaphous flies of the genus *Delia*, *A. bipustulata* is more generalist as it parasitizes other phytophagous, saprophagous, coprophagous or necrophagous flies (Maus *et al.* 1998). *Aleochara* adults are also predators of host eggs and larvae (Fuldner 1960). Both *Aleochara* species are found at the same time in the same crop fields where most available hosts will be *D. radicum* pupae, and competition between these two species can occur (Josso 2012). In addition, *A. bilineata* females have lower fecundity and longevity (Fournet *et al.* 2000), do not benefit from alternative hosts and are often less abundant in the field. Previous study on the choice of oviposition sites have shown that *A. bilineata* females are capable to adapt their clutch size to environmental cues such as presence of infested plant, the presence of pupae or the quality of hosts (Fournet *et al.* 2001). Due to the stable coexistence of these two species in the field, we think that *A. bilineata* females may compensate their handicap in fecundity and longevity by stronger competitive abilities such as an adaptation of clutch size and a more aggressive behavior when facing *A. bipustulata* competitors.

The aim of the present study is to investigate choices made by females of the specialist species, *A. bilineata* when they encounter competitors in a host patch. In a first experiment, we studied, the impact of competitors on oviposition site choices and host egg predation rate. Females had to choose between two areas containing either (i) *A. bilineata* competitors vs no competitor, (ii) *A. bipustulata* competitors vs no competitor, or (iii) *A. bilineata* competitors vs *A. bipustulata* competitors and finally, no competitors vs other insects that are not competitors. Each site also contained two hosts and 20 *D. radicum* eggs to measure daily predation. The last treatment was used to establish whether females would avoid a patch simply because other insects are present. We expected that females would preferentially exploit patches without competitors in order to decrease

competition for their progeny and preferentially exploit the site with interspecific competitors when the alternative choice was a site with intraspecific competitors, which could explain the coexistence of these two species. We could not predict the impact of competitors on the level of predation of *A. bilineata* females, a particular model which are both generalist predators and specialist parasitoids, and also because studies on predators have shown that conspecifics or heterospecific species could both impact or have no influence on predation levels. In a second experiment between owner and intruder females, we studied behaviors of *A. bilineata* females when encountering conspecifics or *A. bipustulata* intruders in a host patch which they had exploited for the past 24 hours. In contest experiments, we expected that *A. bilineata* females having spent 24 hours in the patch would be more aggressive than intruders during confrontations. Specialist females are expected to have the highest RV, consequently we postulated that intraspecific contests between *A. bilineata* females would be more aggressive than interspecific contests. We also tested the correlation between aggressiveness and egg load and between aggressiveness and number of larvae recovered at the end of the experiment to study their influence on the motivation of *A. bilineata* females, the prediction being that previous or future exploitation of host patches should increase the motivation of females and therefore their aggressivity.

Materials & methods

Insect rearing

Host strain

The *D. radicum* population was established in 2011 from pupae collected in broccoli fields at Le Rheu, Brittany, France (48° 07' 16'' N, 1° 47' 41'' O). It was refreshed yearly with wild individuals from the same location. The strain was maintained on Swede roots (*Brassica napus*) in a climatic chamber (20±1°C, 60±10 % RH, 16-L: 8-D) following a method derived from van Keymeulen *et al.* (1981).

Parasitoid strain

Aleochara bilineata and *A. bipustulata* strains were established in 2012 from parasitized *D. radicum* pupae collected also at Le Rheu in the same location as described above. Adults of each species were kept in separate plastic boxes (16 × 9.5 × 8cm) filled up with moistened vermiculite containing *D. radicum* pupae, minced beef *ad libitum* as food source and covered with a wet paper towel. Once a week, adults were collected from the rearing box and placed in another one with fresh pupae. Parasitized pupae were recovered and stored separately until parasitoid emergence. Emerging adults were either used for maintaining the rearing or for the experiments.

Flea beetles

Adult *Phyllotreta* sp. individuals were sampled in broccoli fields at Le Rheu in 2014 in the same location as described above. They were stored in a climatic chamber under the same conditions and provided with broccoli leaves for food and humidified cotton wool for water. Individuals were kept for up to one week.

Preparation of *A. bilineata* females

All *A. bilineata* individuals emerging were put together in a plastic box (Ø: 11cm ; h: 8cm) to ensure the fecundation of females. They were provided with a piece of humidified cotton wool and minced beef meat as sources of water and food respectively and stored in a climatic chamber under the same conditions for 4 or 5 days. Females were then isolated in a cup (Ø: 4.2cm, h: 3.2cm) (Solo Cup Co®, Urbana, USA) with a 1 cm² piece of humidified foam for water and a small piece of minced meat for food. They were stored again in the climatic chamber for 2-7 days until they were used in experiments. Consequently, females were 9-14 days old when used in experiments. Each females were used only once.

Adjustment of clutch size to the presence of competitors

The aim of this study was to determinate if *A. bilineata* adjust their oviposition site choices in presence of competitors. Here, competitors were enclosed in a punctured Eppendorf tube. They could make antennal contact through holes with tested females and were visible but could not get out of the Eppendorf tube. A female was placed in the middle of a box (25x14x9cm) with two humidified pieces of foam at each extremity as oviposition sites. *Aleochara* females will readily lay their eggs on such sites, especially if host cues are present. On each piece of foam, we placed (i) 20 *D. radicum* eggs aged less than two days (to ensure that larvae did not hatch during experiments) were placed to monitor predation rate, (ii) a pierced Eppendorf® containing two *D. radicum* pupae to provide host cues (females could touch and go near the two hosts) and (iii) different competition modalities. Dual choices were: (i) five *A. bilineata* females vs no competitor, (ii) five *A. bipustulata* females vs no competitor, (iii) five *Phyllotreta* sp. individuals vs no competitor (iv) five *A. bilineata* females vs five *A. bipustulata* females. Tested females were removed daily from the experiment box and stored in a clean cup, while eggs laid by *A. bilineata* females in each site were counted and removed. Intact *D. radicum* eggs were counted to estimate the number of predated eggs, replaced by fresh *D. radicum* eggs. After this period of time (or this short manipulation) females were replaced in the middle of the same experiment box for the next 24 hours. Experiments were conducted during three consecutive days for each female.

Contest behaviors in the presence of competitors

Five *D. radicum* pupae and a small piece (about 1g) of swede root representing a host patch (previously infested by *D. radicum* but from which larvae have left to pupate) were placed in a mini Petri dish ($\varnothing$: 3cm ; h : 0.8 cm) and put in the middle of covered circular dish ($\varnothing$: 6cm ; h : 1.3cm) used as an arena for contests. Arenas were almost filled up with humidified sand and placed for two hours in the climatic room. Then, one *A. bilineata* or *A. bipustulata* female was placed in the arena which was stored again for 24h in the climatic room (these females were considered as "owners"). After this period, an *A. bilineata* or *A. bipustulata* female was added (these females were considered as "intruders") and the behaviors of each female were observed and recorded for 10 minutes. Both owners and intruders could be either *A. bilineata* or *A. bipustulata* females but we only analysed *A. bilineata* behaviors during interspecific and intraspecific contests. Behaviors were divided into three categories: (i) antennal contacts (one individual touches the other with one or both antennas), (ii) aggressive behaviors (the female raises its abdomen, pushes the opponent with its abdomen or bites with its mandibles) and (iii) escape behaviors (the female moves away from the opponent). After the contest, females were dissected and the number of mature eggs in their ovaries was counted. Arenas were further stored in the climatic room for five days and then five more fresh *D. radicum* pupae

were added to provide at least five hosts of the right stage to *Aleochara* larvae potentially hatching from the eggs laid. After five more days, all pupae were observed under a binocular microscope and the number of *Aleochara* larvae was counted and we used it as a proxy of the number of eggs laid by females because eggs would have been very difficult to recover from the sand. Parasitized hosts were attributed to owners eggs because intruder females did not have the time to lay eggs during contests and were never seen ovipositing during the experiments. This data was collected because investment in contests of owner females could be correlated to exploitation of the host patch before the contest.

Statistical analysis

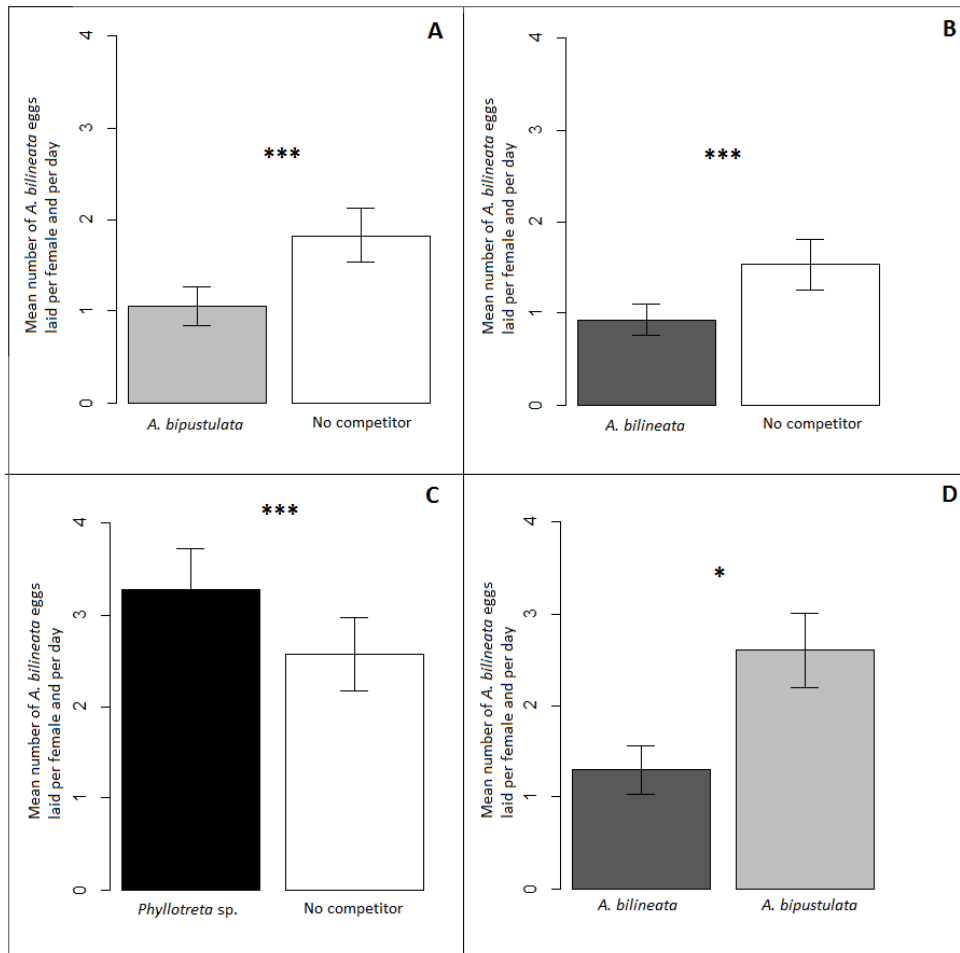
Proportions of *A. bilineata* eggs laid in each site were compared for each choice experiment using a Wald test in a Generalised Linear Mixed-model (GLMM) following a negative binomial distribution with the factor day nested into the random factor female. The proportions of *D. radicum* eggs predated in each site were compared for each choice experiment using a Wald test in a GLM following binomial distribution with the factor day nested into the random factor female. Numbers of each type of behavior (contact, aggressive and escape), number of mature eggs and numbers of larvae retrieved (only for owners) were compared between type of contest (intraspecific and interspecific) for owners and intruders using a GLM following a negative binomial distribution. The number of behaviors, the number of mature eggs and the number of larvae retrieved (only for owners) were compared between owners and intruders using a GLM following a negative binomial distribution. In intraspecific contests we added the confrontation as random factor (GLMM). Correlative analyses were conducted using a Spearman correlation test. Statistical tests were conducted at a critical level of $\alpha=0.05$ and performed using R version 3.10 (R core Team 2014).

Results

Adjustment of clutch size to the presence of competitors

Choice of oviposition site

A. bilineata females laid significantly more eggs in sites without competitors than with *A. bipustulata* (GLMM; $P = 2.2 \times 10^{-16}$; Figure 1A) or *A. bilineata* competitors (GLMM; $P = 2.2 \times 10^{-16}$; Figure 1B). On the contrary, females laid more eggs in sites with *Phyllotreta* sp. than in sites without any insects (GLMM; $P = 2.2 \times 10^{-16}$; Figure 1C). Finally, *A. bilineata* females laid significantly more eggs in sites with *A. bipustulata* females compared to sites with conspecific females (GLMM; $P = 0.015$; Figure 1D).



Choice of predation site

The number of *D. radicum* eggs predated by *A. bilineata* females was not different between sites when the choice was between a site without competitor and one with *A. bipustulata* females, a site with *A. bilineata* females or one with *Phyllotreta* individuals (GLMM; $P = 0.31$, $P = 0.95$ and $P = 0.52$ respectively; Figure 2A,B & C). On the contrary, *A. bilineata* females predated significantly more *D. radicum* eggs in the site with *A. bipustulata* females compared to the site with *A. bilineata* females (GLMM; $P = 0.003$; Figure 2D).

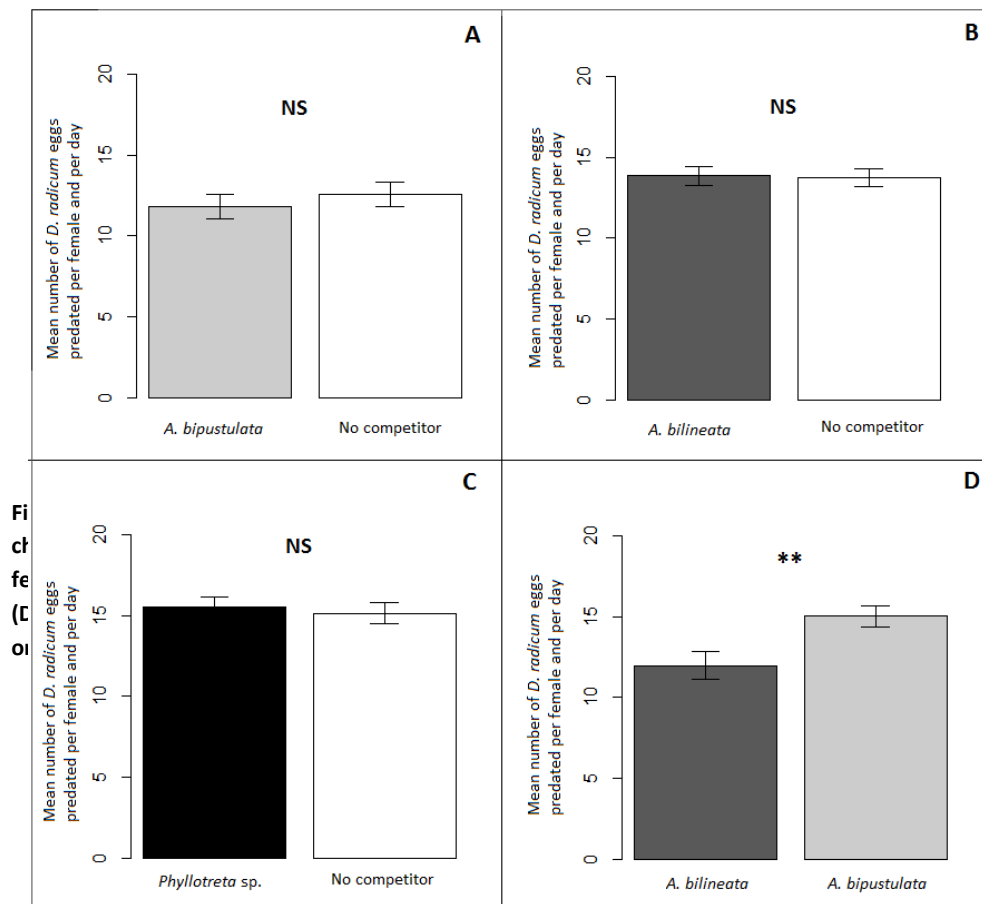


Figure 2: Mean daily number of *D. radicum* eggs predated by a *A. bilineata* female in each sites when giving dual choice between: (A) five *A. bipustulata* females vs no competitor (N=29), (B) five *A. bilineata* females vs no competitor (N=44), (C) five individuals of *Phyllotreta* sp. vs no competitor (N=29) or (D) five *A. bilineata* females vs five *A. bipustulata* females (N=32). Bar indicate standard error. Wald test on GLM : ** $P < 0.01$, NS $P > 0.05$.

Contest behaviors in the presence of competitors

Comparison between interspecific and intraspecific contests for owner and intruder females

The behavior of owners did not differ significantly in terms of contact or escape behaviors between intraspecific or interspecific contest (GLM; respectively $P = 0.23$ and $P = 0.56$). However, *A. bilineata* owners were significantly more aggressive when engaged in an intraspecific contest (GLM; $P = 0.04$). Owners also presented significantly fewer mature eggs in their ovaries after the experiment when they had been engaged in an intraspecific contest (GLM; $P = 0.005$) although the number of larvae retrieved in each experiment was not significantly different (GLM; $P = 0.4$) (Table 1).

Intruders females emitted significantly more aggressive and escape behaviors in intraspecific contests (GLM; respectively $P = 0.005$ and $P = 0.0005$). The numbers of mature eggs in ovaries were again significantly higher in females engaged in interspecific than in intraspecific contests (GLM; $P = 0.01$). Contact behaviors did not differ between treatments (GLM; $P = 0.46$) (Table 1).

Comparison between owner and intruder females

In intraspecific contests, *A. bilineata* owners emitted significantly more contact behaviors than intruders (GLMM; $P = 0.003$) and were also significantly more aggressive (GLMM; $P = 0.02$). Consequently, intruders emitted significantly more escape behaviors (GLMM; $P = 8.4 \times 10^{-7}$). Finally, intruder females had more mature eggs in their ovaries than owner females (GLMM; $P = 0.02$; Table 1).

In interspecific contests, owners tended to be more aggressive and intruders to escape more but the differences did not reach significance (GLM; $P = 0.08$ and $P = 0.07$, respectively). The numbers of mature eggs were not significantly different between owners and intruders (GLM; $P = 0.4$; Table 1).

Type of contest	Female status	Contact behaviors	Aggressive behaviors	Escape behaviors	mature eggs	larvae retrieved
intraspecific	owner	3.6 ± 1.0 aA	5.7 ± 0.94 aB	1.3 ± 0.2 aA	2.4 ± 0.8 aA	3.8 ± 0.72 A
	intruder	1.2 ± 0.3 bA	3.1 ± 0.50 bB	5.9 ± 1.1 bB	6.5 ± 1.4 bA	-
interspecific	owner	2.2 ± 0.6 aA	3.1 ± 0.67 aA	1.1 ± 0.3 aA	7.6 ± 2.7 aB	5.0 ± 1.0 A
	intruder	1.7 ± 0.4 aA	1.8 ± 0.36 aA	1.9 ± 0.4 aA	9.8 ± 2.0 aB	-

Table 1: Mean number of each type of behavior emitted by females during the 10 minutes contest, mean number of mature eggs in their ovaries just after the contest and larvae observed in pupae 10 days after the start of the experiment for each female in function of their status and the type of contests. Different lowercase letters indicate significant differences between owners and intruders for a given type of contest. Different capital letters indicate significant differences between intraspecific and interspecific contests for a given female status.

Correlative analyses

We tested correlations between egg load or the number of larvae retrieved after experiments and the number of each behavior emitted by owners. No correlation was significant, although egg load had a tendency to be positively correlated to aggressive behaviors in owners engaged in an intraspecific contest ($r = 0.41$, $P = 0.07$; data not shown).

Discussion:

To our knowledge, these two experiments represent the first description of interference competition in adult coleopteran parasitoids for host patch resources. The aim was to study the behavioral modifications of females of the specialist species *A. bilineata* when facing different competitors in host patches. We showed that *A. bilineata* females discriminate between sites with or without competitors and lay more eggs in the absence of competition. Moreover, these females discriminate conspecific from heterospecific competitors and adjust both clutch size and aggressiveness levels to the type of competitor encountered.

A. bilineata females were able to perceive and distinguish different insects enclosed in a punctured tube. Both the presence of conspecific or *A. bipustulata* competitors reduced the number of eggs laid in oviposition sites when an alternative competitor-free site was available. When both sites harbored competitors, adult females of the specialist species (*A. bilineata*) laid more eggs in the site with the generalist competitor. These results agree with previous studies showing that first instar *A. bilineata* larvae are already capable of discriminating conspecific from heterospecific larvae in a parasitized pupae (Fournet *et al.* 1999). It is also coherent with a study of larval competition between these two species showing the larval superiority of the specialist species over its generalist competitor (Bili *et al.* submitted). On the contrary, when given the choice between a site without competitors and a site with another non competitor insect (the flea beetle *Phyllotreta* sp., a phytophagous coleopteran), *A. bilineata* females surprisingly laid more eggs in the sites with flea beetles. However, *Phyllotreta* sp. are plant feeders and individuals were fed with broccoli leaves. *Aleochara bilineata* females actively search for odours of roots of Brassicaceous plant infested by *D. radicum* larvae to lay their eggs (Fournet *et al.* 2001). In our set up *A. bilineata* females may be responding to brassicaceous odours emitted by flea beetle frass. Together our result shows that (i) odours emitted by insects inside the Eppendorf tube were detected by the tested females and (ii) it is the presence of competitors and not that of any insect that decreased the number of eggs laid by *A. bilineata* females. In addition, the fact that *A. bilineata* females predated host eggs in the two sites every day in each treatment demonstrates that females visited both sites and were able to make an informed choice when laying their own eggs.

Clutch size adjustment has been shown in a great variety of animals such as birds, frogs or insects (Lack 1947, Resetairts & Wilbur 1989, Charnov & Skinner 1984,1985). It was more recently studied in predatory beetles and in hymenopteran parasitoids (Visser *et al.* 1998, Goubault *et al.* 2007b, Agarwala *et al.* 2003). Due to their biology, solitary parasitoids generally increase their clutch size when females have previously encountered competitors; such behavior enhances the probability of

survival of one larva in a host during parasitism by other larvae of the same (superparasitism) or other species (multiparasitism) (Visser *et al.* 1998). On the contrary, gregarious parasitoid, females decrease their clutch size after encountering competitors to decrease competition between larvae and avoid physiological suppression or fitness cost for their progeny (Visser *et al.* 1998). A smaller clutch size will also increase the size of emerging adults which could be an advantage in future competition with other parasitoids (Visser *et al.* 1998, Goubault *et al.* 2007b). Although their larvae are solitary, parasitoids of dipteran pupae such as *A. bilineata* lay their eggs in the patch and not in the host. Accordingling they could behave more like gregarious parasitoids and were called "quasi-gregarious" parasitoids, considering host patches, where they lay clutches of eggs, as host units (Hardy 1994). *A. bilineata* females have previously been shown to adjust clutch size to environmental cues such as presence of infested brassicaceous plants, *D. radicum* eggs or hosts (Fournet *et al.* 2001). Here, the presence of competitors apparently reduced the value of the patch and consequently decreased clutch size allowing to decrease the cost of larval competition or to avoid intraguild predation as cannibalism can occur in this species (Lizé 2007). On the contrary, the presence of competitors in a site did not impact the level of predation when the alternative choice was a site free of competitors. In *Menochilus sexmaculatus*, a coleopteran predator of aphids, the presence of competitors also reduce clutch size but not the number of aphids eaten (Agarwala *et al.* 2003). Our first explanation for was that the competition pressure borne by females for predation is probably lower compared to that for host parasitism and did not lead to behavioral modifications because *Aleochara* beetles are generalist predators. However, when given the choice between a site with conspecific and heterospecific competitors (the generalist *A. bipustulata*), *A. bilineata* females predated more eggs in sites with *A. bipustulata* competitors. This result was surprising because females did not seem to adjust the number of *D. radicum* eggs they eat to the level of competition. Therefore we hypothesize that *A. bilineata* females (i) avoided costly aggressive interactions with conspecific females and (ii) as a result decreased the level of intraspecific competition by reducing the level of predation in host patches harbouring conspecific females. Such behavior could be adaptative and increase dispersion of *A. bilineata* females, leading to a better repartition of specialist females and by doing so decrease the amount of intraspecific competition compared to interspecific competition. This would improve the chances of a stable coexistence with *A. bipustulata*, its abundant and potentially weaker competitor (Ives 1988). Finally, females could lay their eggs mostly in sites with heterospecific competitors because larvae of *A. bipustulata* are lower competitors during larval competition (Bili *et al.* submitted). Consequently, larvae that compete with heterospecific larvae have increased probability of success compared to those that compete with larvae of the same species.

In the second experiment, we observed the behavior of "owner" females encountering "intruder" female competitors on a host patch they had exploited for the past 24 hours. Both owner and intruder could be either *A. bilineata* or *A. bipustulata* females but we only analysed *A. bilineata* behaviors during interspecific and intraspecific contests. During intraspecific contests, owners took more often the initiative of interaction and were more aggressive than intruders which fled more often although they had more mature eggs in their ovaries. Aggressive behaviors have been described in several studies on coleopterans and even in the *Aleochara* genus where they are emitted by males during contests for females (Howden & Campbell 1974, Hanley 2001, Okada & Miyatake 2004, Peschke 1987, Forsyth & Alcock 1989). In our settings, females cannot leave arenas and consequently we could not assess formally which opponents won the contests. However, the RHP of females influences aggressiveness as a component of competitive abilities. Owner females were then more likely to be more aggressive than their intruder opponents. These results agree with other studies that showed ownership as the main factor influencing competitive abilities and the outcome of competition during animal contests; the owner frequently winning the competition against an intruder (Hammerstein 1981). The same behavioural patterns between owner and intruder females were observed in each type of contests but as there were fewer interactions in interspecific contests (both with *A. bilineata* as owner and as intruder), females of each status only showed tendencies to behave differently. In intraspecific contests, interactions were more frequent and both owner and intruder females were most aggressive. It was expected because specialist species have higher RV and should invest more in contest when confronted to patches harboring their specific host compared to generalist species which can find alternative hosts more easily. This result also demonstrates the high cost for *A. bilineata* females to exploit patches already occupied by conspecific females and could explain the behavioral choice made in the previous experiment where patches harbouring conspecifics were avoided. Other factors, such as the size or weight of opponents, have not been studied here and could also influence the outcome of contests (Forsyth & Alcock 1989, Petersen & Hardy 1996). It would be interesting to consider them in further experiments on *Aleochara* species.

The number of mature eggs found in the ovaries of both owner and intruder females after the experiment was also significantly higher in interspecific contests although there was no difference in the number of larvae retrieved after each type of contest (which we used as a proxy of the number of eggs laid by owner females). We cannot explain this result because interspecific and intraspecific observations were done alternatively each week during 6 weeks. Two outliers (females that harbored more than 40 mature eggs remaining in their ovaries after interspecific contests) were removed from the analysis but it did not cancel the difference between each type of contest showing that

differences in the number of mature eggs was more spread among females. The physiological state of females was shown in previous studies to influence contest resolution in the parasitoid wasp *Gonozius nephantidis* (Stokkebo & Hardy 2000). Consequently, differences between intraspecific and interspecific owners could explain the difference of aggressiveness between each type of contests if an increasing number of mature eggs in their ovaries would decrease the investment of female in contests. However, this hypothesis is not coherent with our results because the number of mature eggs in ovaries showed tendencies to be positively correlated with aggressive behaviors in intraspecific contests. Surprisingly, the number of parasitized pupae retrieved after contests (used as a proxy of the number of eggs laid by the owner) was not different between types of contests and also not correlated to the number of aggressive behaviors emitted by owner females. Further experiments are needed but it seems to indicate that aggressive behaviors were not emitted to avoid intraguild predation as shown for example in burying beetles (Bartlett 1987).

We reported here choices made by specialist coleopteran parasitoid females that adapt their level of predation, oviposition and behavioral responses to the competitor they encounter in host patches. The factors influencing RHP or RV and consequently the investment of females in contests need to be part of further studies on this species. *Aleochara bipustulata* females should also be studied in the same way to validate the relation between competition asymmetry, host specialization and competitive abilities. The part taken by interference competition in the coexistence of these two species should be considered. Indeed, *A. bilineata* females seem to decrease intraspecific competition on a given patch by emitting intense aggressive behaviors towards conspecific females, and such intraspecific segregation could help explaining the stable coexistence of specialist species with abundant generalist competitors in the field.

Acknowledgments

The authors would like to thank V. Chaminade for providing pupae and for rearing maintenance.

Bibliography

- Agarwala BK, Yasuda H, Kajita Y (2003).** Effect of conspecific and heterospecific feces on foraging and oviposition of two predatory ladybirds: role of fecal cues in predator avoidance. *Journal of Chemical Ecology*, 29(2), 357-376.
- Andersson M & Iwasa Y (1996).** Sexual selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 11, 53-58.
- Archer J & Thanzami V (2007).** The relation between physical aggression, size and strength, among a sample of young Indian men. *Personality and Individual Differences*, 43(3), 627-633.
- Bartlett J (1987).** Filial cannibalism in burying beetles. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 21(3), 179-183.
- Bili M, Cortesero AM, Outreman Y, Poinot D (2014).** Host specialization and competition asymmetry in coleopteran parasitoids. *Oecologia*, submitted.
- Birch LC (1957)** The meanings of competition. *American Naturalist*, 5-18.
- Brown WL, Wilson EO (1956)** Character displacement. *Syst. zool.*, 5(2), 49-64.
- Charnov EL (1976).** Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical population biology*, 9(2), 129-136.
- Charnov EL & Skinner SW (1984).** Evolution of host selection and clutch size in parasitoid wasps. *Florida Entomologist*, 5-21.
- Charnov EL & Skinner SW (1985).** Complementary approaches to the understanding of parasitoid oviposition decisions. *Environmental Entomology*, 14(4), 383-391.
- Dayan T & Simberloff D (2005)** Ecological and community-wide character displacement: the next generation. *Ecol. Lett.*, 8(8), 875-894.
- De Moraes CM, Cortesero AM, Stapel JO, Lewis WJ (1999)** Intrinsic and extrinsic competitive interactions between two larval parasitoids of *Heliothis virescens*. *Ecol. Entomol.*, 24:402-10
- Enquist M, & Leimar O (1987).** Evolution of fighting behaviour: the effect of variation in resource value. *Journal of theoretical Biology*, 127(2), 187-205.
- Eggleton P & Gaston KJ (1990)** " Parasitoid" Species and Assemblages: Convenient Definitions or Misleading Compromises?. *Oikos*, 417-421.

- Forsyth A & Alcock J (1990).** Female mimicry and resource defense polygyny by males of a tropical rove beetle, *Leistotrophus versicolor* (Coleoptera: Staphylinidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 26(5), 325-330.
- Fournet S, Renoult L, Nenon JP, Brunel E (1999)** Super-et multiparasitisme chez les *Aleochara* (Coleoptera: Staphylinidae) inféodés à la mouche du chou *Delia radicum* L.(Diptera: Anthomyiidae). *Ann. Soc. entomol. Fr.* (Vol. 35, pp. 384-389). Société entomologique de France.
- Fournet S, Stapel JO, Kacem N, Nenon JP, Brunel E (2000).** Life history comparison between two competitive Aleochara species in the cabbage root fly, *Delia radicum*: implications for their use in biological control. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(3), 205-211.
- Fournet S, Poinso D, Brunel E, Nénon JP, Cortesero AM (2001).** Do female coleopteran parasitoids enhance their reproductive success by selecting high-quality oviposition sites? *Journal of animal ecology*, 70(6), 1046-1052.
- Frechette B, Dixon AF, Alauzet C, Hemptinne JL (2004).** Age and experience influence patch assessment for oviposition by an insect predator. *Ecological Entomology*, 29(5), 578-583.
- Fuldner D (1960)** Beitrage zur Morphologie und Biologie von *Aleochara bilineata* Gyll.und *A. bipustulata* L. (Coleoptera: Staphylinidae). *Z. Morph. Ökol. Tiere*, 49: 312–386.
- Goubault M, Outreman Y, Poinso D, Cortesero AM (2005).** Patch exploitation strategies of parasitic wasps under intraspecific competition. *Behavioral Ecology*, 16(4), 693-701.
- Goubault M, Cortesero AM, 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.
- Goubault M, Mack AF, Hardy IC (2007b).** Encountering competitors reduces clutch size and increases offspring size in a parasitoid with female–female fighting. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1625), 2571-2577.
- Goubault M & Decuignière M (2012).** Previous experience and contest outcome: winner effects persist in absence of evident loser effects in a Parasitoid Wasp. *The American Naturalist*, 180(3), 364-371.
- Hammerstein P (1981).** The role of asymmetries in animal contests. *Animal Behaviour*, 29(1), 193-205.

Hanley RS (2001). Mandibular allometry and male dimorphism in a group of obligately mycophagous beetles (*Insecta: Coleoptera: Staphylinidae: Oxyporinae*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 72(3), 451-459.

Hardy IC & Blackburn TM (1991). Brood guarding in a bethylid wasp. *Ecological entomology*, 16(1), 55-62.

Hardy IC (1994). Sex ratio and mating structure in the parasitoid Hymenoptera. *Oikos*, 3-20.

Hardy IC & Briffa M (2013). *Animal contests*. Cambridge University Press. (Eds.).

Howden HF & Campbell JM (1974). Observations on some *Scarabaeoidea* in the colombian Sierra Nevada de Santa Marta. *The Coleopterists' Bulletin*, 109-114.

Humphries EL, Hebblethwaite AJ, Batchelor TP & Hardy IC (2006). The importance of valuing resources: host weight and contender age as determinants of parasitoid wasp contest outcomes. *Animal Behaviour*, 72(4), 891-898.

Huntingford FA, Turner AK, Downie LM (1987). *Animal conflict*. Chapman & Hall/CRC.

Ives AR (1988). Covariance, coexistence and the population dynamics of two competitors using a patchy resource. *Journal of Theoretical Biology*, 133(3), 345-361.

Josso C (2012) Écologie des interactions entre la mouche du chou *Delia radicum* et ses ennemis naturels: de la parcelle au paysage (Doctoral dissertation, Rennes 1).

Lack D (1947). The significance of clutch-size. *Ibis*, 89(2), 302-352.

Le Lann C, Outreman Y, Van Alphen JJ, Krespi L, Pierre JS, Van Baaren J (2008). Do past experience and competitive ability influence foraging strategies of parasitoids under interspecific competition? *Ecological Entomology*, 33(6), 691-700.

Le Lann C, Outreman Y, Van Alphen JJM, Van Baaren J (2011). First in, last out: asymmetric competition influences patch exploitation of a parasitoid. *Behavioral Ecology*, 22(1), 101-107.

Le Lann C, Visser B, Van Baaren J, Van Alphen JJ, Ellers J (2012). Comparing resource exploitation and allocation of two closely related aphid parasitoids sharing the same host. *Evolutionary Ecology*, 26(1), 79-94.

Lizé A (2007). *Reconnaissance de parentèle chez Aleochara bilineata (Coleoptera: Staphylinidae): mécanismes proximaux et optimalité évolutive* (Doctoral dissertation, Rennes 1).

- Lucas E, Gagne ISABELLE, Coderre, DANIEL (2002).** Impact of the arrival of *Harmonia axyridis* on adults of *Coccinella septempunctata* and *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, 99(4), 457-463.
- MacArthur RH (1972)** Geographical ecology: patterns in the distribution of species. NY: Harper and Rowe.
- Maus CH, Mittmann B, Peschke K (1998)** Host records of parasitoid *Aleochara* Gravenhorst species (Coleoptera, Staphylinidae) attacking puparia of cyclorrhapheous Diptera. *Deut. Entomol. Z.*, 45(2), 231-254.
- Mohamad R, Monge JP, Goubault M (2010).** Can subjective resource value affect aggressiveness and contest outcome in parasitoid wasps?. *Animal Behaviour*, 80(4), 629-636.
- Mohamad R, Monge JP, Goubault M (2011).** Agonistic interactions and their implications for parasitoid species coexistence. *Behavioral Ecology*, arr098.
- Mohamad R, Monge JP, Goubault M (2012).** Wait or fight? Ownership asymmetry affects contest behaviors in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology*, ars125.
- Okada K & Miyatake T (2004).** Sexual dimorphism in mandibles and male aggressive behavior in the presence and absence of females in the beetle *Librodor japonicus* (Coleoptera: Nitidulidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 97(6), 1342-1346.
- Oliver TH, Timms JEL, Taylor A, Leather SR (2006).** Oviposition responses to patch quality in the larch ladybird *Aphidecta oblitterata* (Coleoptera: Coccinellidae): effects of aphid density, and con- and heterospecific tracks. *Bulletin of entomological research*, 96(01), 25-34.
- Peschke K (1987).** Male aggression, female mimicry and female choice in the rove beetle, *Aleochara curtula* (Coleoptera, Staphylinidae). *Ethology*, 75(4), 265-284.
- Petersen G & Hardy IC (1996).** The importance of being larger: parasitoid intruder-owner contests and their implications for clutch size. *Animal Behaviour*, 51(6), 1363-1373.
- Resetarits Jr WJ & Wilbur HM (1989).** Choice of oviposition site by *Hyla chrysoscelis*: role of predators and competitors. *Ecology*, 220-228.
- Riechert SE (1998).** Game theory and animal contests. *Game theory and animal behavior*, 64.
- Ruzicka Z (1994).** Oviposition-detering pheromone in *Chrysopa oculata* (Neuroptera: Chrysopidae). *European Journal of Entomology*, 91, 361-361.

Schoener TW (1983) Field experiments on interspecific competition. *Am. nat.*, 240-285.

Stokkebo S & Hardy IC (2000).The importance of being gravid: egg load and contest outcome in a parasitoid wasp. *Animal Behaviour*, 59(6), 1111-1118.

Taylor AJ, Müller CB & Godfray HCJ (1998).Effect of aphid predators on oviposition behavior of aphid parasitoids.*Journal of Insect Behavior*, 11(2), 297-302.

Tilman D (2000) Causes, consequences and ethics of biodiversity. *Nature*, 405(6783), 208-211.

Van Keymeulen M, Hertveldt L, Pelerents C (1981) Methods for improving both the quantitative and qualitative aspects of rearing *Delia brassicae* for sterile release programmes. *Entomol. Exp. Appl.*, 30(3), 231-240.

Vázquez DP Melián CJ, Williams NM, Blüthgen N, Krasnov BR, Poulin R (2007) Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks. *Oikos*, 116(7), 1120-1127.

Visser ME, Rosenheim JA (1998).The influence of competition between foragers on clutch size decisions in insect parasitoids. *Biological Control*, 11(2), 169-174.

Wäckers FL (1999). Gustatory response by the hymenopteran parasitoid *Cotesia glomerata* to a range of nectar and honeydew sugars.*Journal of Chemical Ecology*, 25(12), 2863-2877.

Whitehouse ME (1997).Experience influences male–male contests in the spider *Argyrodus antipodiana* (Theridiidae: Araneae). *Animal Behaviour*, 53(5), 913-923.

Yamada YY & Sugaura K (2003).Evidence for adaptive self-superparasitism in the dryinid parasitoid *Haplogonatopus atratus* when conspecifics are present.*Oikos*, 103(1), 175-181.

Chapitre 4 : La compétition entre larves de premier stade

Présentation du Manuscrit 2 :

Host specialization and competition asymmetry in coleopteran parasitoids

(en révision par *Oecologia*)

Chez les parasitoïdes, l'exploitation d'un hôte ne fait pas disparaître instantanément la ressource, qui reste disponible pendant un certain temps pour d'autres prédateurs ou parasitoïdes. Chez les parasitoïdes solitaires, si plusieurs larves tentent de se développer au sein du même hôte (superparasitisme ou multiparasitisme), une lutte à mort s'engage entre les compétiteurs. Cette compétition dite *intrinsèque* a été largement étudiée chez les hyménoptères parasitoïdes, chez lesquels les femelles peuvent avoir un fort impact sur l'issue de la compétition larvaire : elles peuvent tuer l'oeuf ou la larve du compétiteur déjà installé, grâce en particulier à leur ovipositeur. Au contraire, chez les coléoptères staphylins du genre *Aleochara*, qui pondent dans le milieu et non dans l'hôte, ce sont les larves mobiles de premier stade qui trouvent et évaluent l'hôte dans lequel elles vont se développer : elles sont donc les seules actrices directes de la compétition larvaire. Dans cette étude nous avons déterminé l'issue de la compétition entre les larves de premier stade des espèces *A. bilineata* et *A. bipustulata* lorsqu'elles prospectent en même temps à proximité d'un hôte et peuvent le parasiter. La précocité de l'arrivée sur l'hôte étant habituellement un facteur majeur dans la réussite de la compétition larvaire, nous avons également étudié l'impact d'un délai de 24 heures entre l'arrivée des deux larves à proximité de l'hôte. Nos hypothèses étaient que (i) la larve parasitant l'hôte en premier aurait l'avantage dans la compétition et (ii) l'espèce spécialiste serait le meilleur compétiteur larvaire (car les larves de cette espèce ont moins de chance de trouver un hôte alternatif dans le même environnement que les larves de l'espèce généraliste). Nos résultats confirment ces deux hypothèses et montrent même le spécialiste parvient encore à remporter la moitié des combats lorsqu'il a 24h de retard sur son concurrent généraliste. Nous concluons que le spécialiste l'emporte comme attendu sur le généraliste dans la compétition intrinsèque (larvaire). Ces résultats sont pour leur impact sur la coexistence entre les deux espèces avec des degrés de spécialisation à l'hôte différents.

Host specialization and competition asymmetry in coleopteran parasitoids

Bili M.^{1,3}, Cortesero A.M.^{1,3}, Outreman Y.², Poinso D.^{1,3}

¹ Université Rennes 1, UMR1349 IGEPP, F-35000 Rennes, France

² Agrocampus Ouest, UMR1349 IGEPP, F-35000 Rennes, France

³ Université Européenne de Bretagne, France

Corresponding author :

Mikaël Bili

mail: bili.mikl@gmail.com

tel: (00 33) 2.23.23.52.25

En révision pour *Oecologia*

Abstract

When specialists and generalists compete for a limited resource, specialists should fight harder because they cannot default to an alternative resource. In parasitoids with overlapping host ranges, a competition asymmetry should therefore exist where specialists are more likely to win the host in case of contest. Competition between parasitoids has been studied mostly in hymenopterans. In such parasitoid wasps, females always reach the host to lay their eggs and can thus strongly influence the outcome of competition between future offspring by killing eggs or larvae of competitors. We instead studied the competition between the free-ranging larvae of two sympatric parasitoid rove beetles (one specialist, *Aleochara bilineata* and a generalist, *A. bipustulata*) with overlapping host ranges and competing in agricultural fields for pupae of the cabbage root fly. In these species, females lay their eggs in the soil then first instars find the host where they will develop as solitary parasitoids and deal with potential competitors. Because adult longevity and fecundity favour the generalist, we postulated that first instars of the specialist would be superior larval competitors. Accordingly, we studied the outcome of encounters between first instars of the two species provided with a single host. Whether released before or simultaneously with its generalist competitor, the larva of the specialist most often won. Moreover, specialist larvae still won half of the encounters when generalist larvae were given 24h priority. This might explain the coexistence of the two species in the field. We also found indirect evidence of aggressive interactions outside the host, which would be the first example of such interactions between free ranging parasitoid larvae.

Keywords: Interspecific competition, larval competition, species coexistence, niche partitioning, coleopteran parasitoids.

Introduction

Interspecific competition is a strong evolutionary force driving the composition of ecological communities (Schoener 1983). Defined as the exploitation of the same limited resources by different species, it can lead to the disappearance or displacement of weaker competitors if resources are not shared or if they are limited in space and/or time (Gause 1934, Sorribas et al. 2010). Nevertheless, many competing species coexist successfully and previous studies have revealed several mechanisms allowing them to share limited resources, such as spatio-temporal resource partitioning, ecological character displacement or change in the resource spectrum (MacArthur 1972, Brown & Wilson 1956, reviewed in Dayan & Simberloff 2005). When a limited resource cannot be shared between two individuals, the choice of behavioural responses is to escape or fight (Yamauchi et al. 2005). The investment of species in competitive abilities is strongly influenced by their capacity i) to find resources in other environments (i.e. their dispersal ability) and ii) to find alternative resources in the same environments (i.e. their degree of specialization) (Tillman 2000). Specialist species (exploiting a narrow range of resources and environments) have less alternative options than generalist species (which can use a larger range). If dispersion is limited, or if no alternative resources are available, fighting is the best way to overcome competition. Accordingly, specialists bear a stronger selective pressure to fight instead of avoiding competition. Theory thus predicts that specialist species will invest more in competition and produce better competitors than generalist species which, on the other hand, are expected to be better dispersers than specialists because they are more likely to find alternative resources elsewhere (MacArthur 1972, Force 1972, 1974, Strickler 1979, Hassell and May 1986).

Parasitoids are insects that complete their larval development to the detriment of a single arthropod host, which they kill in the process (Eggleton and Gaston 1990). Studies on parasitoid guilds have shown that many parasitoid species can share the same host species through differences in life history traits and behaviours that mitigate the competitive exclusion between species (Elzinga et al. 2007, Amarasekare 2000, Pérez-Lachaud et al. 2002, Ives et al. 1988). In agreement with the above specialist/generalist theory of competition, specialist parasitoids bear a stronger selective pressure than generalists to become strong competitors because in case of a competition for a limited resource they have fewer or no alternative hosts. Therefore competition may generate strong selective pressure on parasitoid populations and shape host exploitation strategies in these organisms. A competitive asymmetry where host specialists will dominate generalists in case of direct competition in or on a host could evolve.

Due to their high species diversity, hymenopteran parasitoids have been the subject of most parasitoid competition studies (reviewed in Harvey et al. 2013, Hardy et al. 2013); far less information is available on dipteran or coleopteran parasitoids, which have a different biology (Reader and Jones, 1990, Schmid-Hempel & Schmid Hempel 1996, Iwao et Ohsaki 1996, Brodeur & Boivin 2004). Especially, these two orders are very different from hymenopterans concerning the developmental stage contacting the host because in some cases, it is the mobile first instars (and not the adult females) that ultimately find, evaluate and penetrate the host where they will develop (Godfray 1994, Feener & Brown 1997). Compared to adults, those larvae have poor dispersion abilities, meaning that any host found is a very valuable resource unless hosts are found in large groups (as can happen in necrophagous or coprophagous flies). Accordingly, the selective pressure due to competition among specialists and generalists should be even stronger in these parasitoid larvae, making them particularly appropriate models to test the relation between ecological specialisation and competition asymmetry.

Competition between larvae for the same host will take place during *superparasitism* when the host is parasitized by larvae of the same species (van Alphen and Visser 1990) or during *multiparasitism* when competitors are of different species (Fisher 1961). The durable coexistence of larvae in a single host is only found in gregarious parasitoid species, where larvae will remain each confined in a small part of the host body, without agonistic interactions (Boivin and van Baaren 2000) and few studies even reported host-sharing by two solitary larvae (Goubault et al. 2003, Harvey et al. 2003). However, most parasitoid species are strictly solitary, meaning that the host allows the development of a unique immature parasitoid and most cases of multiple parasitism lead to elimination of supernumerary larvae through chemical or physical competition within the host (Fisher 1961, Shi et al. 2004, Tian et al. 2008).

The two rove beetles *Aleochara bilineata* and *Aleochara bipustulata* (Gravenhorst) (Coleoptera; Staphylinidae) are ground-dwelling parasitoids of dipteran pupae. *Aleochara bilineata* is a specialist parasitoid of cyclorrhaphous flies of the genus *Delia* including the cabbage root fly *Delia radicum* L. (Diptera: Anthomyiidae) which is a pest of brassicaceous crops (Maus et al. 1998). Even in the roots of a large cultivated plant, *D. radicum* pupae are never very abundant, with typically a few pupae per infested plant and most plants being uninfested, so on a given plant this resource can be considered as severely limited. The close species *A. bipustulata* is more generalist as it can parasitize *Delia* sp. in cultivated brassica fields but, unlike *A. bilineata*, it can also use as hosts other phytophagous, saprophagous, coprophagous or necrophagous flies belonging to various families such as *Piophilidae*, *Musca domestica*, *Lucilia sericata* and *Ravinia pernix* (Maus et al. 1998). Among those alternative hosts, necrophagous and coprophagous hosts typically occur in large groups on

temporary but rich patches of decaying organic matter. Adults of both parasitoid species are predators of host eggs and larvae (Fuldner 1960). In Brittany, both *Aleochara* species are found at the same time in the same crop fields (where most available hosts will be *D. radicum* pupae) and competition between these two species can occur (Josso et al. 2012). In agreement with the relationship between specialisation and competition asymmetry (Mac Arthur 1972), we postulate that the specialist *A. bilineata* is a stronger larval competitor than its generalist competitor. Indeed, since *A. bilineata* has a lower fecundity and longevity, does not benefit from alternative hosts and is often less abundant in the field (Fournet et al. 2000, Maus et al. 1998, Josso 2012); being a superior larval competitor could compensate its handicaps in adult traits. Such a larval superiority would explain why despite its abundance *A. bipustulata* does not exclude *A. bilineata* from these agricultural habitats. An argument in favour of our hypothesis is that *A. bilineata* accepts more often to penetrate hosts already parasitized by *A. bipustulata* than the reverse (Fournet et al. 1999).

The aim of the present study is to evaluate the outcome of larval competition between two species with overlapping ecological niches and different degree of specialization, to test the prediction that the specialist will be the better competitor. Our results may also help to explain the coexistence between these two species. To establish which species is the best larval competitor experimentally, we determined the final outcome of competition between one *A. bilineata* larva and one *A. bipustulata* larva competing for a single healthy host. The two conditions tested were (i) simultaneous release of both larvae in the setup and (ii) a 24h delay between each release, because being first to penetrate the host gives an advantage, and the superior competitor might be able to neutralize such an advantage in the weaker competitor.

Material and methods

Parasitoid biology

Unlike hymenopteran parasitoids, coleopteran females do not have a piercing ovipositor. Accordingly, they lay their egg in locations harbouring hosts. The first instars actively search for and parasitize the host (Fournet et al. 1999). The larva enters the hardened puparium of the fly host by cutting a hole with its sharp mandibles. Then, it settles in the vicinity of its entrance hole and starts feeding. Finally, it excretes a viscous substance through the anus and uses it as a plug to seal the hole (Fuldner 1960, Royer et al. 1998). The plugging process is variable and lasts 18 to 48 hours; it prevents an easy entry for pathogens and competitors (Colhoun 1953, Fuldner 1960). Larvae of one species are able to discriminate pupae parasitized by the other from healthy pupae and when given the choice, time and enough physiological reserves, they will avoid such already parasitized pupae (Royer et al. 1999).

Insects rearing

Host strain

The *D. radicum* population was established in 2011 from pupae collected in broccoli fields at Le Rheu, Brittany, France (48° 07' 16" N, 1° 47' 41" O). It was refreshed yearly with wild individuals from the same location. The strain was maintained on Swede roots (*Brassica napus*) following a method derived from van Keymeulen et al. (1981).

Parasitoid strain

Aleochara bilineata and *A. bipustulata* strains were established in 2009 from parasitized *D. radicum* pupae collected in broccoli fields at Paramé, Brittany, France (48°39'28,12" N, 1°58'55,65" O). Adults of each species were kept in separate plastic boxes (16 × 9.5 × 8cm) filled up with moistened vermiculite containing *D. radicum* pupae, minced beef *ad libitum* as food source and covered with a wet paper towel. Once a week, adults were collected from the rearing box and placed in another one with fresh pupae. Parasitized pupae were recovered and stored separately until parasitoid emergence. Emerging adults were either used for maintaining the rearing or for the experiments.

Immature parasitoids production

For each species, ten to twenty females were placed with males in boxes (ø: 10cm, h: 9.5 cm) filled up with moistened vermiculite with wet cotton and minced beef *ad libitum* as water and food source. Two to three times a week, vermiculite was sifted (ø: 0.8mm) and the finest fraction

containing the eggs was examined under the binocular. Eggs were collected with a brush and placed individually in a Bleem capsule® (Agar Scientific, Essex, England, $\varnothing$: 0.7mm, l: 1.4mm). Twenty to thirty capsules were placed together in a Solo Cup® (Urbana, USA, $\varnothing$: 4.2cm, h: 3.2cm), humidified with a water spray and stored for ten days in controlled conditions (20 ± 1 °C, 60 ± 10 % RH and a 16-L: 8-D photoperiod). The capsules were monitored daily for hatched larvae and the Solo Cup was humidified.

Preparation and monitoring of experiments

Two larvae aged less than 24h, one of each *Aleochara* species, were placed with a small moist brush on the surface of the vermiculite, either simultaneously or with an interval of 24 hours between the two with 193-256 replicates per treatment. On any given day of the experiment, the same numbers of replicates with *A. bilineata* first and *A. bipustulata* first were carried out. Pupae were observed under the binocular microscope after five days and the number of larvae visible through the translucent puparium were counted. Then, pupae were replaced in the Solo Cup and were stored again in a climatic chamber as above until emergence of parasitoids (30 to 45 days). The variables measured were (i) percentage of unparasitized hosts, (ii) percentage of hosts parasitized by one larva (iii) percentage of hosts parasitized by both larvae (iv) intra-host mortality (i.e. percentage of parasitized host failing to yield a parasitoid) (v) percentage of each species emerging from parasitized hosts (in case of multiparasitism, only one parasitoid can develop per host).

Statistical analysis

Total percentages of parasitism and proportions of hosts with one or two larvae inside were compared between treatments using a Wald test in a General Linear Model (GLM) following a binomial distribution. In the same way, percentage of mortality and percentage of emerging *A. bilineata* were compared between hosts with one or two larvae inside and between treatments. When a significant effect was observed, pairwise comparisons of each pair of treatments were performed. The proportion of *A. bilineata* emerging from parasitized hosts were analysed using exact binomial tests for each treatment and were confronted to our null hypothesis (H_0 : $P=0.5$). Statistical tests were conducted at a critical level of $\alpha=0.05$ and performed using R version 3.10 (R core Team 2014).

Results

Nearly all hosts were parasitized by at least one larva [95%CI: 94-97 %] (figure 1). In the 5 % of remaining cases, both larvae must have died of starvation or combat before penetrating the host and this proportion did not differ significantly between treatments ($P=0.79$). In half of the parasitized hosts, two larvae were visible inside the host [CI: 44-52%] and this proportion was different between treatments overall ($\chi^2=6.36$, $P=0.042$). In pairwise comparisons, this proportion was close to be significantly lower when the two larvae were released simultaneously compared to the situation when *A. bilineata* larvae were released first ($P=0.06$) and when *A. bipustulata* larvae were released first ($P=0.07$)(Figure 1).

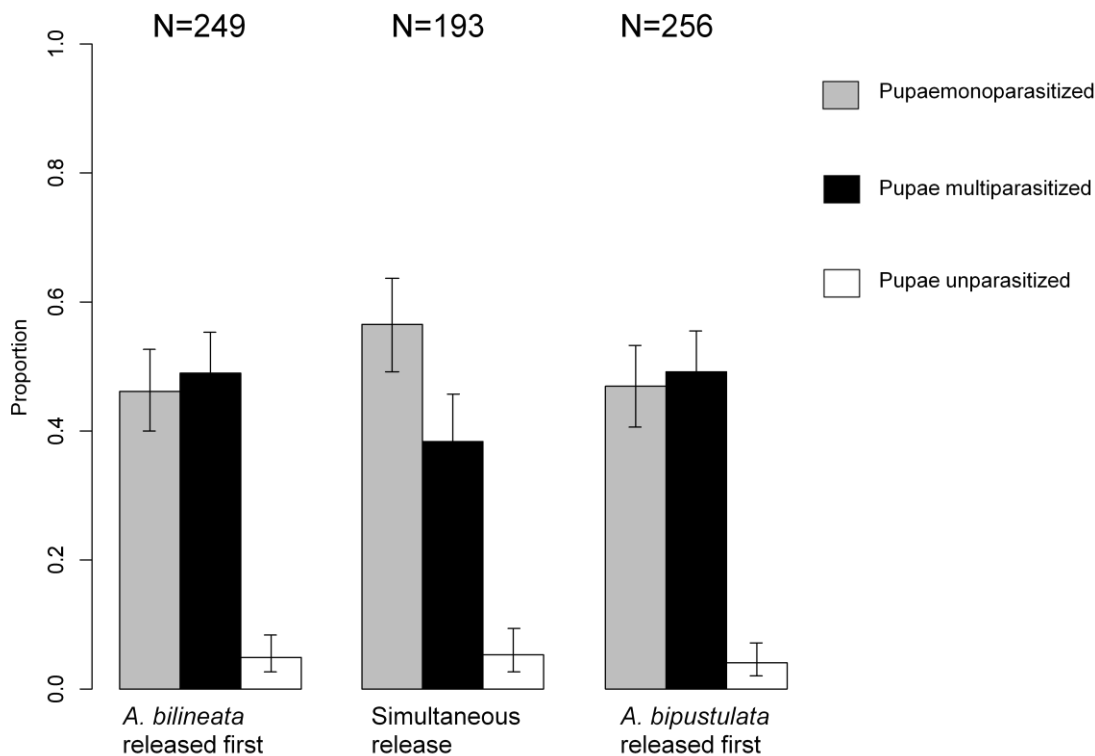


Figure 1. Proportion of pupae parasitized by both larvae (black), one larva (grey) or unparasitized (white). Left panel: *A. bilineata* larva released 24h before its *A. bipustulata* competitor. Middle panel: two larvae released simultaneously. Right panel: *A. bipustulata* larva released 24h before its *A. bilineata* competitor. Bar: 95%CI.

When *A. bilineata* larvae were released 24h before their *A. bipustulata* competitor, *A. bilineata* represented over 80% of adults emerging from parasitized hosts, whether one or two larvae were seen inside the host (respectively : [CI: 72-89 %] and [CI: 71-89 %]). When the two competitors were released simultaneously, most adults recovered were again *A. bilineata*, representing 74 % [CI: 64-83 %] of adults emerging from monoparasitized pupae and 66 % [CI: 51-79 %] of adults emerging from

multiparasitized pupae (Figure 2). Only when *A.bipustulata* larvae were given a 24h head start did the two species emerge in similar proportions, both from hosts with one or two apparent larvae (Figure 2). The emergence of each species was not different between multiparasitized hosts and monoparasitized hosts ($P=0.42$) (Figure 2).

Intra-host mortality (i.e. the failure to produce any adult) was higher in multiparasitized than in monoparasitized hosts (37% vs 23%, $P=5.10^{-5}$). This rate was also close to be significantly higher when *A. bipustulata* larvae were released first compared to when the larvae were released simultaneously (35% vs 25%, $P=0.06$).

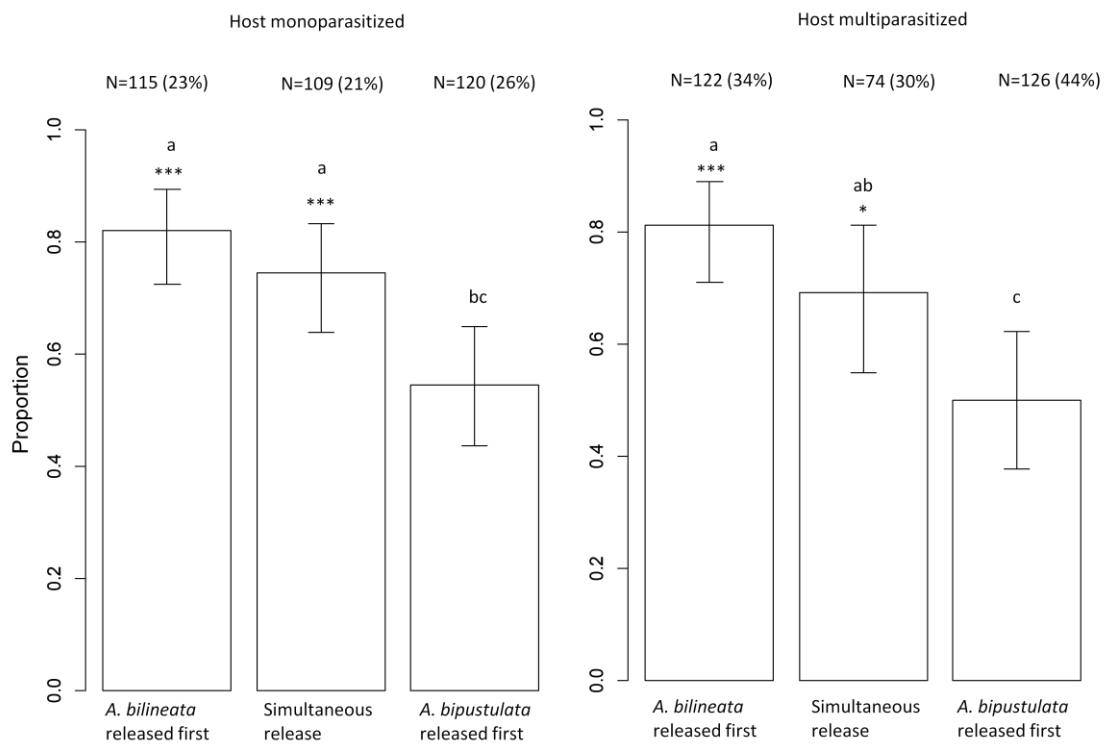


Figure 2. Proportion of hosts yielding an *A. bilineata* adult when an *A. bilineata* and an *A. bipustulata* larva compete for parasitizing a single host. Left panel: pupae parasitized by a single larva. Right panel: pupae parasitized by both larvae. The larvae were released in the experimental setup either 24h apart or simultaneously. The percentage of intra-host mortality (parasitized pupae yielding no adult) is indicated between brackets. Bar: 95%CI. Exact binomial test of emergent of each species with $H_0: P=0.5$; * $P<0.05$; *** $P<0.001$. Different letters indicate significant differences

Discussion

Outcome of competition

Aleochara spp provide an example of parasitoids with a particular larval biology that follow the theory predicting that specialists have higher exploitative (i.e. competitive) abilities than their generalist competitors that have better colonization abilities (fecundity and host range) allowing the coexistence of both species (Mac Arthur 1972, Force 1972, 1974, Hassell & May 1986, Carton et al. 1986).

The two parasitoid species with an overlapping host range studied here exploit ephemeral patchily distributed resources and display very similar development strategies as pupal solitary ectoparasitoids of Dipteran hosts. However, generalist *A. bipustulata* females produce more larvae (due to a longer longevity and fecundity). A higher fecundity might help this generalist to exploit locally abundant resources such as pupae of flies developing on faeces or carrion. *Aleochara bipustulata* females are frequently more abundant in Brassicaceae crops than specialist *A. bilineata* females (Fournet et al. 2000, Josso 2012). It is therefore likely that when *D. radicum* is the disputed host, larval abundance in a host patch (an infested plant) would often be biased in favour of the generalist parasitoid species. This situation has a great potential for strong reciprocal effects and coevolution (Vasquez et al. 2007) between competitive species. It creates a strong pressure on the specialist species to either find the hosts or fight for them more efficiently than their abundant generalist competitor. In cases such as the one studied here, where larval competition plays a central role in the competition between two species, we found that specialist larvae are indeed stronger competitors than generalist larvae when the larvae interact directly.

Larval competition between parasitoids has been the subject of many studies and several factors affecting its outcome have been identified. The feeding strategy adopted by parasitoid larvae (idiobiont vs koinobiont or endoparasitoids vs ectoparasitoids or solitary vs gregarious) or the stage they attack have been the focus of several studies (reviewed in Harvey et al. 2013) but few authors compared a specialist and a generalist species sharing the same feeding strategies (Laing & Corrigan 1987, Iwao & Ohsaki 1996, De Moraes et al. 1999, 2005, Stilmant et al. 2008). Hymenopteran parasitoids provided contrasted results that do not always follow theories on the relation between fighting abilities and host specialization in larval competition. On the one hand, the specialist *Cotesia rubecula* is a stronger larval competitor than its more generalist competitor *Cotesia glomerata* on their common host *Pieris rapae* (Laing & Corrigan 1987) while, on the other hand, the generalist *Aphidius ervi* is the strongest larval competitor on *Sitobion avenae* when competing with the

specialist *Aphidius rhopalosiphii* and the generalist *Praon volucre* (Stilmant *et al.* 2008). In the same way, in Dipteran parasitoids, larvae of the highly generalist *Compsilura concinnata* escape the competition with those of the specialist *Epicampocera succincta* leading to the emergence of the former species in multiparasitized *Pieris* hosts (Iwao & Ohsaki 1996). The global outcome of competition is often difficult to predict because other life stages can compensate disadvantages in larval fighting abilities depending of the importance of each life stages on population dynamics. For example adult females of the specialist hymenopteran *Cardiochiles nigriceps* find hosts more efficiently than females of the generalist *Microplitis croceipes*, thus compensating lower larval fighting abilities (De Moraes *et al.* 1999).

A key factor influencing larval competition is the order in which oviposition occurs: being the first species exploiting the host is usually profitable because larvae can start ingesting resources before encountering competitors and already installed larvae may prevent other larvae to develop within the same host by destroying supernumerary eggs or larvae (Chow & Mackauer 1984, Mackauer 1990, Harvey *et al.* 2012). Accordingly, the delay between ovipositions increases the probability that the first larva wins the competition since the larger larva can more easily outperform its competitors (Mackauer 1990, Tillman and Powell 1992, Goubault *et al.* 2003). In our study, the important factor is not oviposition but which larva gets first inside the host. Indeed, not only does the first larva taking shelter into the host feed first, it also benefits from a much better fighting position because any would-be intruder will be most vulnerable when squeezing its way into the host through a narrow hole. One of our key results is therefore that *A. bilineata* manages to maintain a 50:50 chance to win the competition even when the *A. bipustulata* larva has benefited from a 24h head start to parasitize the host, while in the reverse situation the success rate of *A. bipustulata* against an already entrenched *A. bilineata* larva is low (18%). In multiparasitized hosts, it is when *A. bipustulata* larvae were most likely to be the "owners" of the pupa, that intra-host mortality (in case of multiparasitism, *both* competitors died) was close to be significantly higher compared to other treatments. This result fits with *A. bilineata* being the superior competitor: it is when the weaker competitor benefited from the best fighting position (i.e. was already installed inside the host) that fights would have been the most balanced, leading to maximum mutual damage and an increased mortality. This result explains previous works showing that *A. bilineata* more often penetrates hosts already parasitized by *A. bipustulata* than vice versa and where an equal proportion of both species emerge when *A. bilineata* larvae penetrate the host 96 hours after *A. bipustulata* larvae (Fournet *et al.*, 1999). These previous results associated with the outcome of competition presented here show that the larvae of both species adjust their host exploitation decision to the level of competition risk.

The mechanisms allowing the specialist larva to dominate its generalist competitor have not been identified here. The key is likely to be in the life history traits of specialist larvae because they bear a stronger selective pressure to outcompete generalists while the latter can rely on alternative hosts that specialists cannot use. In larval competition, fast development and a rapid growth are determinant factors (De Moraes et al. 1999, Goubault et al. 2003, Harvey et al. 2009). *Aleochara bilineata* total development time is shorter than that of *A. bipustulata* but the specific difference between first and second instars is unknown (Fournet et al. 2000). *Aleochara bilineata* larvae are also slightly larger (Fuldner 1960) which is usually an advantage in physical interactions (Petersen & Hardy 1996), but not necessarily when the fight takes place in a very confined space. Due to the fact that *Aleochara* larvae also compete outside the host (which they must search for and evaluate) some traits usually associated with adult parasitoids might play a key role, such as mobility, host detection capabilities and aggressive behaviours (De Moraes 1999, Jaloux et al. 2004). Mobility and host detection capability were probably not relevant in our very small experimental setup, while both larvae had ample opportunities to meet and fight their competitor. It is unfortunately not possible to observe directly the possible interaction between competing larvae outside of the host because upon hatching *Aleochara* larvae immediately move below ground and will not attack pupae exposed at the surface, therefore observing the outcome of the competition was the only proxy we could use.

Multiparasitism rate

The fact that larvae could interact and possibly fight outside the host probably explains in part why not all pupae were penetrated by both larvae despite the absence of an alternative host, while it remains possible that both larvae rejected the host during five days and starved to death. Multiparasitism rate was 50% overall and was coherent with previous studies which showed multiparasitism rising to 50% in interspecific no-choice experiments (Fournet et al. 1999). Intra-host mortality was overall significantly higher in multiparasitized hosts. This result is consistent with other studies: multiparasitism usually decreases parasitism success because fights either kill both competitors or at least cost energy to the winner (Harvey et al. 1993, Tunca 2009). When larvae were released 24h before their competitors, we expected that in monoparasitized hosts the first individuals released, whatever their species, would emerge from a higher proportion of pupae (because being the first inside the host gives a better fighting position to prevent the other larva to enter). In contrast, in hosts where both larvae succeeded to penetrate, we expected that the best competitor species would emerge from a majority of pupae, the order of arrival being less relevant once both larvae are fighting inside the host. However, our results showed very similar pattern of emergence for each species both in mono and multiparasitized hosts. These results suggest that the

outcome of competition may be decided both outside and inside the host and it suggests again that agonistic interactions could happen outside the host.

Conclusion & perspectives

Our results might explain the coexistence of these two competing species which show a double competitive asymmetry (adult traits seem to favour the generalist while larval traits show the reverse). One limit of our work is that we studied the larvae of only two coleopteran parasitoid species differing by their host range (which is about the best we can do with coleopteran parasitoids) so we cannot rule out that selective pressures or traits unrelated to the generalist/specialist continuum might play a role in the superior fighting ability of *A. bilineata* larvae. To have a better view of the relationship between these two species, the competition between adult females should also be studied in terms of interference and exploitation competition. These two particular rove beetles might represent particularly good models to tease apart the components of competition between a specialist and a generalist, but parasitoids in general represent a substantial fraction of biodiversity, and this work shows the value of examining larval behaviours to understand their competitive interactions.

Acknowledgments

The authors would like to thank V. Chaminade for providing pupae and for rearing maintenance.

Bibliography

Amarasekare P (2000) Coexistence of competing parasitoids on a patchily distributed host: local vs. spatial mechanisms. *Ecology*, 81(5), 1286-1296.

Boivin G, Van Baaren J (2000) The role of larval aggression and mobility in the transition between solitary and gregarious development in parasitoid wasps. *Ecol. Lett.*, 3(6), 469-474.

Brodeur J, Boivin G (2004) Functional ecology of immature parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.*, 49(1), 27-49.

Brown WL, Wilson EO (1956) Character displacement. *Syst. zool.*, 5(2), 49-64.

Carton Y, Bouletreau M, Van Alphen JJM, Van Lenteren JC (1986). The *Drosophila* parasitic wasps. In: Ashburner, M., Thompson, J. (Eds.), *The Genetics and Biology of Drosophila*. Academic Press, New York, USA, pp. 347–394.

Chow FJ & Mackauer M (1984) Inter-and intraspecific larval competition in *Aphidius smithi* and *Praon pequodorum* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Can. Entomol.*, 116(08), 1097-1107.

Colhoun J (1953) Observations on the incidence of club root disease of *Brassicae* in limed soils in relation to temperature. *Ann. Appl. Biol.* 40(4), 639-644.

Dayan T, Simberloff D (2005) Ecological and community-wide character displacement: the next generation. *Ecol. Lett.*, 8(8), 875-894.

De Moraes CM, Cortesero AM, Stapel JO, Lewis WJ (1999) Intrinsic and extrinsic competitive interactions between two larval parasitoids of *Heliothis virescens*. *Ecol. Entomol.*, 24:402–10

De Moraes CM, Mescher MC. (2005) Intrinsic competition between larval parasitoids with different degrees of host specificity. *Ecol. Entomol.*, 30:564–70

Eggleton P, Gaston KJ (1990) " Parasitoid" Species and Assemblages: Convenient Definitions or Misleading Compromises?. *Oikos*, 417-421.

Elzinga JA, Zwakhals K, Harvey JA, Biere A (2007) The parasitoid complex associated with the herbivore *Hadena bicruris* (Lepidoptera: Noctuidae) on *Silene latifolia* (Caryophyllaceae) in the Netherlands. *J. Nat. Hist.*, 41(1-4), 101-123.

Feener DH, Brown BV (1997) *Diptera* as parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.*, 42(1), 73-97.

Fisher RC (1961) A study in insect multiparasitism II. The mechanism and control of competition for possession of the host. *J. Exp. Biol.*, 38(3), 605-629.

Force DC (1972) R-and K-strategists in endemic host-parasitoid communities. *Bull. Entomol. Soc. Am.*, 18:135–37

Force DC (1974) Ecology of insect host-parasitoid communities. *Science*, 184(4137), 624-632.

Fournet S, Renoult L, Nenon JP, Brunel E (1999) Super-et multiparasitisme chez les *Aleochara* (Coleoptera: Staphylinidae) inféodés à la mouche du chou *Delia radicum* L. (Diptera: Anthomyiidae). *Ann. Soc. entomol. Fr.* (Vol. 35, pp. 384-389). Société entomologique de France.

Fournet S, Stapel JO, Kacem N, Nenon JP, Brunel E (2000) Life history comparison between two competitive *Aleochara* species in the cabbage root fly, *Delia radicum*: implications for their use in biological control. *Entomol. Exp. Appl.*, 96(3), 205-211.

Fuldner D (1960) Beitrage zur Morphologie und Biologie von *Aleochara bilineata* Gyll. und *A. bipustulata* L. (Coleoptera: Staphylinidae). *Z. Morph. Ökol. Tiere*, 49: 312–386.

Gause GF (1934) Experimental analysis of Vito Volterra's mathematical theory of the struggle for existence. *Science*, 79(2036): 16-17.

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

Goubault M, Plantegenest M, Poinot D, and Cortesero AM (2003) Effect of expected offspring survival probability on host selection in a solitary parasitoid. *Entomol. Exp. Appl.*, 109: 123–131.

Hardy IC, Goubault M, Batchelor TP (2013). Hymenopteran contests and agonistic. pp 147-177 in: Hardy ICW & Briffa M (Eds) *Animal contests*. Cambridge University Press, Cambridge.

Harvey JA, Harvey IF, Thompson DJ (1993) The effect of superparasitism on development of the solitary parasitoid wasp, *Venturia canescens* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *Ecol. Entomol.*, 18:203–8

Harvey JA, Strand MR (2003) Sexual size and development time dimorphism in a parasitoid wasp: an exception to the rule? *Eur. J. Entomol.*, 100:485–92

Harvey JA, Gols R, Strand MR (2009) Intrinsic competition and its effects on the survival and development of three species of endoparasitoid wasps. *Entomol. Exp. Appl.*, 130:238–48

Harvey JA, Gumovsky A, Gols R (2012). Effect of host-cocoon mass on adult size in the secondary hyperparasitoid wasp, *Pteromalus semotus* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Insect Sci.*, 19(3), 383-390.

Harvey JA, Poelman EH, Tanaka T (2013) Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annu. Rev. Entomol.*, 58, 333-351.

Hassell MP, May RM (1986) Generalist and specialist natural enemies in insect predator-prey interactions. *J. Anim. Ecol.*, 923-940.

Ives AR (1988) Aggregation and the coexistence of competitors. *Annls. Zool. Fennici* (Vol. 25, No. 1, pp. 75-88).

Iwao K, Ohsaki N (1996) Inter-and intraspecific interactions among larvae of specialist and generalist parasitoids. *Res. Popul. Ecol.*, 38(2), 265-273.

Jaloux B, Sanon A, Huignard J, Monge JP (2004) Interspecific relationships between the solitary ectoparasitoid, *Eupelmus vuilleti* (Craw.) (Eupelmidae), and its sympatric species, *Dinarmus basalis* (Rond.) (Pteromalidae), in the presence of their host, *Callosobruchus maculatus* Pic (Coleoptera Bruchidae). *J. insect behav.*, 17(6), 793-808.

Josso C (2012) Écologie des interactions entre la mouche du chou *Delia radicum* et ses ennemis naturels: de la parcelle au paysage (Doctoral dissertation, Rennes 1).

Laing JE & Corrigan JE (1987) Intrinsic competition between the gregarious parasite, *Cotesia glomeratus* and the solitary parasite, *Cotesia rubecula* [Hymenoptera: Braconidae] for their host. *Artogeia rapae* [Lepidoptera: Pieridae]. *Entomophaga*, 32(5), 493-501.

MacArthur RH (1972) Geographical ecology: patterns in the distribution of species. NY: Harper and Rowe.

Mackauer M (1990) Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. *Critical issues in biological control/edited by Manfred Mackauer and Lester E. Ehler, Jens Roland*.

Maus CH, Mittmann B, Peschke K (1998) Host records of parasitoid *Aleochara* Gravenhorst species (Coleoptera, Staphylinidae) attacking puparia of cyclorrhaphous Diptera. *Deut. Entomol. Z.*, 45(2), 231-254.

Pérez-Lachaud G, Hardy IC, & Lachaud JP (2002) Insect gladiators: competitive interactions between three species of bethylid wasps attacking the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Biol. Control*, 25(3), 231-238.

- Petersen G, Hardy IC (1996)** The importance of being larger: parasitoid intruder–owner contests and their implications for clutch size. *Animal Behavior*, 51(6), 1363-1373.
- R Core Team (2014)** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Reader PM, & Jones TH (1990)** Interactions between an eucoilid [*Hymenoptera*] and a staphylinid [*Coleoptera*] parasitoid of the cabbage root fly. *Entomophaga*, 35(2), 241-246.
- Royer L, Lannic J, Nénon, JP, Boivin G (1998)** Response of first-instar *Aleocharabilineata* larvae to the puparium morphology of its dipteran host. *Entomol. Exp. Appl.*, 87(2), 217-220.
- Royer L, Fournet S, Brunel E, & Boivin G (1999)** Intra-and interspecific host discrimination by host-seeking larvae of coleopteran parasitoids. *Oecologia*, 118(1), 59-68.
- Schmid-Hempel R, Schmid-Hempel P (1996)** Larval development of two parasitic flies (*Conopidae*) in the common host *Bombus pascuorum*. *Ecol. Entomol.* 21, 63–70.
- Schoener TW (1983)** Field experiments on interspecific competition. *Am. nat.*, 240-285.
- Shi ZH, Li QB, Li X (2004)** Interspecific competition between *Diadegma semiclausum* Hellen (Hym., Ichneumonidae) and *Cotesia plutellae* (Kurdjumov)(Hym., Braconidae) in parasitizing *Plutella xylostella* (L.)(Lep., Plutellidea). *J. appl. entomol.*, 128(6), 437-444.
- Sorribas J, Rodríguez R, Garcia-Mari F (2010)** Parasitoid competitive displacement and coexistence in citrus agroecosystems: linking species distribution with climate. *Ecol. Appl.*, 20(4), 1101-1113.
- Stilmant D, Van Bellinghen C, Hance T, Boivin G (2008)** Host specialization in habitat specialists and generalists. *Oecologia*, 156(4), 905-912.
- Strickler K (1979)**.Specialization and foraging efficiency of solitary bees.*Ecology*, 60:998-1009.
- Tian SP, Zhang JH, Yan YH, Wang CZ (2008)** Interspecific competition between the ichneumonid *Campoletis chlorideae* and the braconid *Microplitis mediator* in their host *Helicoverpa armigera*. *Entomol. Exp. Appl.*, 127(1), 10-19.
- Tillman PG, Powell JE (1992)** Intraspecific host discrimination and larval competition in *Microplitis croceipes*, *Microplitis demolitor*, *Cotesia kazak* (HYM.: Braconidae) and *Hyposoter didymator* HYM: Ichneumonidae), parasitoids of *Heliothis virescens* (LEP.: Noctuidae). *Entomophaga*, 37(3), 429-437.
- Tilman D (2000)** Causes, consequences and ethics of biodiversity. *Nature*, 405(6783), 208-211.

Tunca H, Kılınçer N (2009) Effect of superparasitism on the development of the solitary parasitoid *Chelonus oculator* Panzer (Hymenoptera: Braconidae). *Turk. J. Agric. and For.*, 33(5), 463-468.

Van Alphen, JJ, & Visser ME (1990) Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.*, 35(1), 59-79.

Van Keymeulen M, Hertveldt L, Pelerents C (1981) Methods for improving both the quantitative and qualitative aspects of rearing *Delia brassicae* for sterile release programmes. *Entomol. Exp. Appl.*, 30(3), 231-240.

Vázquez DP, Melián CJ, Williams NM, Blüthgen N, Krasnov BR, & Poulin R (2007) Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks. *Oikos*, 116(7), 1120-1127.

Yamauchi K, Asano Y, Lautenschläger B, Trindl A, & Heinze J (2005). A new type of male dimorphism with ergatoid and short-winged males in *Cardiocondyla* cf. *kagutsuchi*. *Insectes soc.*, 52(3), 274-281.

Chapitre 5 : Les communautés bactériennes

Présentation du Manuscrit 3 :

Bacterial community diversity harboured by interacting species

(Soumis à *PloS One*)

Tous les animaux sont infectés par des partenaires bactériens formant une communauté nommée microbiome. Depuis une vingtaine d'année, de nombreuses études ont décrit l'effet de certains membres du microbiome sur les traits d'histoire de vie de leur hôte, faisant ressortir les modifications profondes qu'ils pouvaient induire sur lui et sur les interactions de l'hôte avec son environnement biotique et abiotique. Dans cette étude, nous avons utilisé une méthode de séquençage haut-débit de type 454 pour décrire les communautés bactériennes associées à la mouche du chou *Delia radicum* et trois de ses parasitoïdes (les deux coléoptères *Aleochara bilineata* et *A. bipustulata* et l'hyménoptère *Trybliographa rapae*) dans deux zones de culture situées à l'est et à l'ouest de la Bretagne. L'objectif de cette étude tel qu'il est présenté dans le manuscrit en préparation était de décrire la structuration des communautés bactériennes d'un même réseau trophique. Nous avons ainsi identifié une centaine de genres bactériens repartis de façon inégale au sein de nos espèces, *T. rapae* montrant un microbiome beaucoup plus diversifié que celui des trois autres espèces. La comparaison de ces communautés bactériennes avec le logiciel UniFrac montre que les microbiomes des deux staphylinins sont proches et qu'ils partagent peu de micro-organismes avec leur hôte. Nous avons mis en évidence d'au moins trois symbiotes à transmission verticale (genres *Wolbachia*, *Rickettsia* et *Spiroplasma*) présents chacun dans au moins deux espèces du réseau trophique. Nos données sont compatibles avec l'hypothèse de transferts horizontaux mais la résolution insuffisante du gène 16S utilisé ici ne nous permet pas de les confirmer. Ce travail devait initialement servir de point de départ à l'étude des impacts des communautés bactériennes sur les composantes de la fitness des deux espèces d'*Aleochara*, et donc sur le rôle qu'elles pouvaient jouer dans les interactions compétitives. Des problèmes logistiques (échec du traitement antibiotique contre *Wolbachia*, soucis d'échantillonnage au terrain en 2013 entre autres) n'ont cependant pas permis de dépasser le stade préliminaire (mais indispensable) de la description des microbiomes eux mêmes. La présence de symbiotes connus pour avoir des impacts majeurs sur les traits d'histoire de vie de leur hôte permet cependant de croire que la poursuite de ce travail serait riche de résultats.

Bacterial community diversity harboured by interacting species

Bili M.^{1,4}, Cortesero A. M.^{1,4}, Mougel C.³, Gauthier J. P.³, Ermel G.⁵, Simon J. C.³, Outreman Y.², Terrat S.⁶, Poinso D.^{1,4}.

¹ Université Rennes 1, UMR1349 IGEPP, F-35000 Rennes, France

² Agrocampus Ouest, UMR1349 IGEPP, F-35000 Rennes, France

³ INRA, UMR1349 IGEPP, F-35000 Rennes, France

⁴ Université Européenne de Bretagne, France

⁵ UMR CNRS 6026 Interactions Cellulaires et Moléculaires, Université de Rennes, France

⁶ UMR 1347 Agroécologie, Université de Bourgogne, France

Corresponding author:

Mikaël Bili

mail: bili.mikl@gmail.com

tel.: (+33)02.23.23.52.25

Soumis à *PloS One*

Abstract:

All animals are infected by microbial partners that can be passengers or residents and influence many biological traits of their hosts. Even if important factors that structure the composition and abundance of microbial communities within and among host individuals have been recently described, such as diet, developmental stage or phylogeny, few studies have conducted cross-taxonomic comparisons, especially on host species related by trophic relationships. Here, we describe and compare the microbial communities associated with a major agricultural pest, the cabbage root fly *Delia radicum* and three of its main parasitoids: the two staphylinid beetles *Aleochara bilineata* and *A. bipustulata* and the hymenopteran parasitoid *Trybliographarapae*. For each species, individuals were sampled in two different agricultural areas in Western France and microbial communities were described through culture independent methods (454 pyrosequencing). Each sample harbored at least 59 to 261 different bacterial phylotypes but was strongly dominated by one or two. We found evidence for at least three vertically transmitted symbionts from the genus *Wolbachia*, *Rickettsia*, and *Spiroplasma*. Microbial communities differed markedly in terms of composition and abundance, being mainly influenced by phylogenetic proximity but also geography to a minor extent. Surprisingly, despite their strong trophic interaction, parasitoids shared a very low proportion of microbial partners with their insect host. Finally, we highlight the phylogenetic proximity (and possible identity) of some heritable bacteria borne by the interacting species studied here. We hereby described the structuration and diversity of microbiomes within a food web and identified the symbiotic partners of a major pest and its main natural enemies. This study is a first step toward further experimentation aiming at unravelling the role of some of the identified bacteria on these important insects.

Introduction:

All animals harbor microorganisms which form an internal community or *microbiome*(1). If microbiomes can include bacteria, fungi, virus and protozoa, bacteria are probably the most prevalent taxa both in terms of frequency and diversity (2). This diversity includes many commensal species but also mutualists or pathogens, since some bacteria live as parasites while others improve digestion or host defense against pathogens and other natural enemies (3, 4, 5, 6). Among animals, insects are the most diversified and ubiquitous group on Earth (7) and this is reflected by the diversity of their interactions with the bacteria they harbor. Moreover, insects provide especially good models for studying microbiomes because their bacterial diversity is often simple, with typically less than 30 taxa per host (8), as compared to over 1000 taxa per host in mammals (9). Accordingly, the interactions between insects and their microbiomes have received considerable attention recently (10, 11, 12, 13, 14).

The composition of insect microbiomes differs greatly between host species (15). The most important ecological factor influencing the composition of insect bacterial communities seems to be the phylogenetic relationship between host species: closely related species often share more similar bacterial communities (16). Within an insect species, bacterial communities can be modified by diet, developmental stage, physiological condition and geography (17, 18, 19, 20). The varied effects of bacteria on nutrition, immunity (21), development (22, 23), reproduction (24), protection (25) and speciation (26) indicate that bacterial symbiosis is a major component of insect fitness and evolution. In addition to the enrichment of fundamental ecological knowledge, studies of insect–bacteria interactions have produced advances in applications as diverse as biomedicine and biotechnology (27), but also aided in the identification of new targets for the control of insect pests or pathogen vectors (28).

It is estimated that 99% of bacteria cannot yet be cultivated in the laboratory (29), which represents a serious drawback to studying symbiotic bacteria diversity. However, advances in molecular biology have considerably improved culture-independent techniques to study microorganisms, thanks to PCR amplification of bacterial genes directly from raw samples, followed by direct sequencing of PCR products (30). Where earlier sequencing techniques

provided libraries containing a few dozens of sequences, it is now possible to obtain thousands of sequence reads (31). Moreover, these sequences can be obtained using generalist bacterial 16S rDNA primers (32) amplifying a great diversity of bacterium phyla, thus allowing a complete assessment of bacterial diversity in insect microbiomes (at the cost of taxonomic resolution, because 16S rDNA shows little variability within a given species).

Studies of microbial communities have revealed that several bacterial species are obligate symbionts of insects and strictly transmitted from mother to offspring (either within eggs or through smearing of the eggs) or via social interactions such as trophallaxis (33, 34). These obligate symbionts are specifically associated with several insect groups such as aphids (35), bugs (36) or social insects like termites (37). They are located in specialized host cells called bacteriocytes, in gut crypts (38) or form large colonies in the lumen of the gut. They often provide nutrients lacking in the host diet and are essential for its survival and reproduction (3). Another set of heritable symbiotic bacteria are called facultative symbionts, because they are not essential for host survival (39). Facultative symbionts are mainly maternally inherited but sharp inconsistencies between symbiont and host phylogenies betray occasional horizontal transfers between species (24). Facultative symbionts can induce various effects on host phenotype that increase their own vertical transmission rate to host offspring. They can raise the proportion of infected females in host populations by sexual manipulation (40) or can improve host fitness through behavioural or physiological modifications (5, 41, 42). The best known and studied secondary symbiont is *Wolbachia pipientis*, an *Alphaproteobacteria* widespread among different classes of arthropods and filarial nematodes (43). Depending on strains, *Wolbachia* can benefit some hosts but induce a range of reproductive manipulations in others, such as feminization of males, male-killing, thelytokous parthenogenesis or reproductive incompatibility between uninfected females and infected males, all phenotypes which favour maternal transmission of the infection (24). In many insects, the majority of bacteria detected are environmentally-inherited commensals or pathogens which colonize the digestive tracts after they are consumed by insects. A variety of bacterial phyla are commonly present in insect guts, including *Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and others (45).

Most microbiome studies focus on a single host species (20, 11) or on a few phylogenetically close species (13, 15, 46, 47, 48). They usually concentrate on host-specific bacteria (49) or on specific ecological processes (13,14) or review several host species which do not present any ecological relationship (16). The objective of the present paper is to investigate the complexity of the microbiota of four species constituting a food web, i.e. a crop pest and its three main natural enemies. The cabbage root fly, *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae), is an important pest in brassicaceous crops. It is mainly attacked by three solitary parasitoids: two coleopteran staphylinids *Aleochara bilineata* and *A. bipustulata* and one parasitoid wasp, *Trybliographarapae* (50). Adults of both *Aleochara* species are predators of *D. radicum* eggs and larvae, but their own larvae develop as parasitoids of *D. radicum* pupae (51, 52). While *A. bilineata* is a specialist restricted to parasitizing *Delia* sp., *A. bipustulata* also develops using other saprophagous, necrophagous and coprophagous flies (53). The parasitoid *Trybliographarapae* is a strict specialist of *Delia* sp. for its development, while adults feed on nectar like many hymenopteran parasitoids (54).

As the bacterial communities present in the food and the environment are supposed to influence insect microbiomes, we expected that the bacterial communities of parasitoids using the same host species might be especially alike, because they had experienced both the same food and the same microenvironment during all their development. On the other hand, dissimilarities in specificity, phylogeny and historical events could be reflected in the composition of parasitoid bacterial communities. Finally, vertically transmitted facultative endosymbionts may use trophic interactions between species as an open gate to colonize more species. For example, laboratory experiments have shown that parasitoids are a possible transmission route for facultative endosymbionts in aphids (55) and whiteflies (56). In addition, recent studies showed in terrestrial isopods that *Wolbachia* could, at low densities, cross the intestine wall and colonize a novel host (57). In the gregarious egg parasitoid of the genus *Trichogramma*, horizontal transfer of *Wolbachia* have also been observed between uninfected and infected individuals sharing the same host egg (58).

We used 454 sequencing technology to describe the whole microbiota associated with each sample (a pool of 20 individuals from the same population), with a particular interest toward bacteria known to be vertically transmitted. *Wolbachia* has been previously detected in our laboratory populations of *D. radicum* and of the two *Aleochara* species (unpublished results).

The culture independent method should allow to confirm its presence in populations and to identify other potential facultative endosymbionts present in our species. Second, we compared bacterial communities between and within species, between each geographical location. The relative proximity of bacterial communities of the four species sampled was hard to predict. On the one hand, we assumed that parasitoids might share more bacteria with their hosts than with other parasitoids because of the intimate trophic interaction during development. On the other hand, the two *Aleochara* species are closely related (59) and share a common host species, so they might have had similar bacterial associates. Bacterial phylotypes acquired environmentally in locations where populations were initially sampled could have been conserved during rearing in the laboratory and be shared by the different species from a given location. Comparing samples could therefore allow determining whether trophic interaction, diet, geographical location or phylogenetic relation influences bacterial communities of the four species studied. Finally, 16S rDNA sequences may also outline putative horizontal transfers of intracellular symbionts such as *Wolbachia* between a host and its parasitoids.

Materials and methods:

Sampling, rearing and DNA extraction of insects:

Delia radicum pupae were sampled in broccoli fields in Brittany (Western France) between April and June 2009 from three distinct areas that are representative of brassicaceous production: 'Finistère', 'Côtes d'Armor' and 'Ille et Vilaine'. 'Côtes d'Armor' is located roughly 100km east of 'Finistère' and 100km west of 'Ille et Vilaine'. Pupae were stored individually in punctured Eppendorf tubes in controlled conditions (20 ± 1 °C, 60 ± 10 % RH and a 16-L: 8-D photoperiod) until emergence of adults. Individuals of the four species (*D. radicum* and its three parasitoids *Aleochara bilineata*, *A. bipustulata* and *Trybliographa rapae*) emerging from the pupae were then collected and stored in 95% ethanol (*A. bilineata*) or reared in the laboratory between 6 and 18 months in the same controlled conditions as above and then stored in 95% ethanol (other species). In order to study the most extensive microbiota that individuals of each species could harbor, we took individuals directly at the adult stage in laboratory populations. Sampling site and rearing period for each species are summarized in table 1. No specific permissions were required for these collection activities and samplings did not involve endangered or protected species.

Table 1: Details about samples : Species, sites sampled, corresponding area, number of generations reared in the

Species	Sampling site (geographical	Laboratory generations	Nb.
<i>Delia radicum</i>	Finistère (one field: 48°40'N, 3°59'W)	6	20
<i>Delia radicum</i>	Ille et Vilaine (one field: 48°06'N,	18	20
<i>Aleochara bilineata</i>	Finistère (several fields, 48°40'N,	Wild individuals	20
<i>Aleochara bilineata</i>	Côtes d'Armor (several fields, 48°60'N,	Wild individuals	20
<i>Aleochara bipustulata</i>	Finistère (one field: 48°40'N, 3°50'W)	12	20
<i>Aleochara bipustulata</i>	Ille et Vilaine (one field: 48°06'N,	12	20
<i>Trybliographa rapae</i>	Finistère (several fields, 48°40'N,	3	24
<i>Trybliographa rapae</i>	Ille et Vilaine (one field: 48°06'N,	9	24

laboratory and number of individuals used in 454 sequencing.

Cabbage root fly strains

D. radicum samples from 'Ille et Vilaine' and 'Finistère' were maintained separately on Swede roots (*Brassica napus*) following a method derived from Keymeulen et al. (60).

Fly parasitoids strains

A. bipustulata from 'Ille et Vilaine' and 'Finistère' were reared in the laboratory for one year. Adults were kept in plastic boxes (16×9.5×8 cm) filled up with moistened vermiculite containing *D. radicum* pupae from 'Ille et Vilaine' and minced beef ad libitum as a food source. Once a week, parasitized pupae were collected from the rearing box and stored in another one with moistened vermiculite until parasitoid emergence. *Trybliographa rapae* from 'Ille et Vilaine' and 'Finistère' fields were maintained separately using the rearing conditions described in Neveu et al. (61).

For each population, a total of 20-24 Individuals were directly taken in laboratory populations or after emergence and isolated in an Eppendorf tube. All individuals for each sample were surface-sterilized with bleach diluted in ultrapure water at 3% for 1 minute and rinsed 3 times for 1 minute with ultrapure water. Then, total DNA was extracted from the pooled specimen using the DNeasy™ Tissue Kit (Qiagen) following the standard protocol provided. DNA extractions for each sample were quantified and normalized using a Nanodrop spectrophotometer and DNA extractions of 20 to 24 individuals were combined to create a DNA pool.

Bacterial 16S rDNA PCR amplification

A ~420bp fragment of the v4-v5 region of bacterial 16S rDNA was amplified using the Universal bacterial primers Fwd: GTGCCAGCMGCCGCGGTAAATAC - 3' and rev: CCGTCAATTCCTTTGAGTTT - 5' from Yu & Morrisson (62). Primers were modified by the addition of a GS FLX Titanium Key-Primer A and B (A: CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG and B: CTATGCGCCTTGCCAGCCCGCTCAG) and a multiplex identifier (MID) sequence specific to each species. The MID sequences were as follow for each species: *D. radicum*(GAGTA/TACTG), *T. rapae* (GACGT/GTCTC), *A. bipustulata* (TGTAC/TGTAC) and *A. bilineata* (TCTCG/TGACT). The PCR reaction mixture consisted of 0.358 µL of DNA polymerase at 3.5 U/µL, 2 µL of each primer at 10 mM, 2.5 µL dNTPs at 10 µM for each nucleotide, 5 µL of MgCl₂+10x Buffer and 2 µL of DNA (and 36.144 µL of ultrapure water) for the a final reaction volume of 50 µL constituting the DNA template to be amplified. The PCR parameters were 94°C for 2 min; 15 cycles of 94°C for 30 s, 64°C for 30s and 72°C for 1min; 20 cycles of 94°C for 30 s, 58°C for 30 s and 72°C for 1 min; and a final step at 72°C for 6 min and 10°C for 30 min.

454 pyrosequencing

PCR products were sequenced at the Environmental genomics platform of Biogenouest of the University of Rennes, France, using next generation 454 pyrosequencing. The samples included in the present study were multiplexed with samples not included in this study and were part of each quarter plates of the 454 run. For each samples, PCR products were used in two independent emulsions and sequenced in both directions independently in one run using the protocol GS-FLX-Titanium Amplicon sequencing provided by Roche. Samples from 'Finistère' were pooled in quarter plates 1 & 2 and samples from 'Côtes d'Armor' and 'Ille et Vilaine' were pooled in quarter plates 3 & 4.

Sample assignments and analysis of 454 sequencing data

All 16S rDNA pyrosequencing reads were analyzed using the GnS-PIPE developed by the GenoSol platform (INRA, Dijon, France) and optimized for amplicons analysis (63,64). First, all the raw reads were sorted according to the multiplex identifier sequences. The raw reads were then filtered and deleted if they harbored: (a) a length lower than 400 bp, (b) one or more ambiguities (Ns), (c) an error in the proximal primer sequence (the distal primer sequence must be perfect too, but can be potentially incomplete), (d) an average quality score below 20. A PERL program was then applied for rigorous dereplication (i.e. clustering of strictly identical sequences). The dereplicated reads were then aligned using Infernal alignment (65), and clustered into Operational Taxonomic Units (OTU) at 97% of similarity using a PERL program that groups rare reads to abundant ones, and does not count differences in homopolymer lengths. A filtering step was then carried out to check all single-singletons (reads detected only once and not clustered, which might be artifacts, such as PCR chimeras) based on the quality of their taxonomic assignments. Finally, in order to compare the datasets efficiently and avoid biased community comparisons, the reads were homogenized by random selection of 3,000 reads for each sample. The retained high-quality reads were used for: (i) taxonomy-independent analyses, determining several diversity and richness indexes (number of clusters, Chao1 estimator, Shannon and Evenness) using the defined OTU composition, and (ii) taxonomy-based analysis of each OTU using similarity approaches against dedicated reference databases from SILVA (66). The bacterial communities from all samples were also compared and clustered by using unweighted UniFrac distances (67), based on the 16S and 18S phylogenetic trees computed with FastTree (68). More precisely, UniFrac distances are a measure of the phylogenetic distance between sets of taxa (in a phylogenetic tree) and are useful to compare the similarity of microbial communities. Specifically, "UniFrac measures the phylogenetic distance between sets of

taxa in a phylogenetic tree as the fraction of the branch length of the tree that leads to descendants from either one environment or the other, but not both” (67).

Phylogenetic analyses of vertically transmitted bacteria

Representative sequences of OTU corresponding to bacteria known to be vertically transmitted and shared by at least two species of our sample were then aligned and their phylogenetic positions compared with reference GenBank 16S rDNA from other arthropod hosts (Supplementary data, Table 4). A Neighbour Joining tree was generated using Clustal X version 2.0 and visualized using FigTree v1.40.

Results:

We were able to successfully amplify bacterial 16S rDNA sequences from all samples collected in the study. A half-run of the final pooled PCR amplicons on a 454 GS FLX Titanium Sequencer yielded a total of approximately 250,000 sequences. Post-quality checking (length, chimera, barcode, primer sequence removal and base-quality checks) resulted in 118,597 sequences of a minimum length of 400bp. Homogenization of the samples sets led to keep 48,000 sequences (3000 for each of sample).

Bacterial diversity varied between 59 OTU (9 genera) for *D. radicum* from 'Finistère' and 261 OTU (65 genera) for *T. rapae* also from 'Finistère' (Table 2). Chao1 estimator values ranged between 182 OTU for *D. radicum* and 539 OTU for *T. rapae*, so that the coverage of the estimated microbial diversity ranged from 30% for *D. radicum* ('Finistère') to 63% for *D. radicum* ('Ille et Vilaine') which is low but coherent with other studies on insect microbial communities. Shannon indexes highlighted large differences of bacterial diversity between samples and were comprised between 0.75 for *D. radicum* and 3.25 for *T. rapae*. Evenness was relatively low and varied between 0.18 for *D. radicum* and 0.58 for *T. rapae*. Three major phyla represented 98% of analysed sequences: Proteobacteria (61%), *Tenericutes* (25%) and *Firmicutes* (12%). *Bacteroidetes* (1%), and Actinobacteria (0.3%) were only represented by a few sequences. Proteobacteria were particularly abundant: *Alphaproteobacteria* (49%) were the most prevalent bacteria with sequences in each samples and dominating *D. radicum* and *T. rapae* bacterial communities. *Gammaproteobacteria* (11%) were mostly represented in *A. bilineata* samples from 'Côtes d'Armor' while *Betaproteobacteria* represented only 1% of total sequences. All *Tenericutes* sequences belonged to *Spiroplasma* sp. (25%) while *Firmicutes* were represented by several genera: *Bacillus* sp. (dominating the *A. bilineata* 'Finistère' community), *Solibacillus* sp., *Lysinibacillus* sp., *Sporosarcina* sp. and *Enterococcus* sp. (12%).

Table 2: Bacterial diversity indexes: Richness and diversity indexes associated with each sample and replicate. Coverage = estimated percentage of (Chao 1) richness identified.

Species, population, replicate	Richness (nbOTU)	Chao1	Coverage (%)	Shannon	Evenness
<i>A. bilineata</i> Côtes d'Armor 1	129	307	42	1.79	0.37
<i>A. bilineata</i> Côtes d'Armor 2	119	263	45	1.76	0.37
<i>A. bilineata</i> Finistère 1	83	248	33	1.58	0.36
<i>A. bilineata</i> Finistère 2	90	282	32	1.59	0.35
<i>A. bipustulata</i> Finistère 1	102	309	33	1.11	0.24
<i>A. bipustulata</i> Finistère 2	96	218	44	1.11	0.24
<i>A. bipustulata</i> Ille et Vilaine 1	109	239	46	1.22	0.26
<i>A. bipustulata</i> Ille et Vilaine 2	110	216	51	1.20	0.26
<i>D. radicum</i> Ille et Vilaine 1	95	151	63	1.74	0.38
<i>D. radicum</i> Ille et Vilaine 2	101	198	51	1.76	0.38
<i>D. radicum</i> Finistère 1	68	229	30	0.76	0.18
<i>D. radicum</i> Finistère 2	59	182	32	0.75	0.18
<i>T. rapae</i> Finistère 1	261	539	48	3.25	0.58
<i>T. rapae</i> Finistère 2	258	493	52	3.15	0.57
<i>T. rapae</i> Ille et Vilaine 1	155	303	51	2.04	0.40
<i>T. rapae</i> Ille et Vilaine 2	161	324	50	2.14	0.42

Globally, 108 different bacterial genera were identified in our study. For every sample, one or two genera were strongly represented while many were represented by less than 10 sequences (Table 3). The less diversified bacterial community was found in *D. radicum* samples: *Wolbachia* sp., a vertically transmitted symbiont, represented 97% of the sequences retrieved in the 'Finistère' population and 80% in the 'Ille et Vilaine' population, where *Gluconobacter* sp. represented 18%. Of the 20 genera identified in *D. radicum* samples (9 in the population from 'Finistère' and 16 in 'Ille et Vilaine' samples) only 5 were shared between the two populations. In the two *A. bipustulata* populations, the vertically transmitted symbiont *Spiroplasma* sp. represented 90% of sequences and *Wolbachia* sp. was also detected (5% and 10% of sequences in 'Ille et Vilaine' and 'Finistère' respectively). Globally, 33 genera were identified and 11 were shared between the two populations. *Aleochara bilineata* populations were quite different. In the 'Finistère', *Bacillus* sp. corresponded to 75% of the reads and dominated the bacterial community while in 'Côtes d'Armor' it was *Stenotrophomonas* sp.

(70% of the reads). Again, a few sequences corresponding to *Wolbachia* sp. were retrieved and *Rickettsia* sp. was also identified in the two populations. A total of 37 genera were identified and only 8 were shared between the two populations. Although *T. rapae* exhibited the most remarkably diversified bacterial community in our study (261 OTU) over 90% of sequences from the 'Ille et Vilaine' population belonged to *Asaia* sp., (with *Azospirillum* sp. at 5%), while in 'Finistère', the hymenopteran harboured the vertically transmitted symbionts *Rickettsia* sp. (40%) and *Asaia* sp. represented 30% of the reads, while *Stenotrophomonas* sp. represented 20% of the reads. Globally 76 genera were identified in the two populations of *T. rapae* and 29 were retrieved in the two populations.

Table 3: Abundance of bacterial species from each samples: Abundance of dominant species in our dataset based on 97% similarity OTU assignments. Numbers indicate the number of reads associated to each genus. Known heritable bacteria are outlined by a red frame.

<i>A. bilineata</i> Côtes d'Armor	<i>A. bilineata</i> Finistère	<i>A. bipustulata</i> Ille et Vilaine	<i>A. bipustulata</i> Finistère	<i>D. radicum</i> Ille et Vilaine	<i>D. radicum</i> Finistère	<i>T. rapae</i> Ille et Vilaine	<i>T. rapae</i> Finistère	
		11	2 2 12	1		32 19	223 55 105	Bacteroidetes <i>Flavobacterium</i> <i>Myroides</i> <i>Sphingobacterium</i>
219 1 3 3	4474 530 210 175	2	21	74	5		4 3	Firmicutes <i>Bacillus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Lysinibacillus</i> <i>Solibacillus</i> <i>Sporosarcina</i>
1 117 109	1 8 218	1 8 80 260	2 1 577	9 1097 4791		5470 151 9 4 2 5984	1754 31 21 16 1471 3	Alphaproteobacteria <i>Asaia</i> <i>Azospirillum</i> <i>Gluconacetobacter</i> <i>Ochrobactrum</i> <i>Pseudochrobactrum</i> <i>Rickettsia</i> <i>Wolbachia</i>
	2	5 3 35	4 2	1 2 2	1 2	3 2 9	88 43 47	Betaproteobacteria <i>Achromobacter</i> <i>Deftia</i> <i>Ralstonia</i>
108 4210	7	1	24			4 32	51 593	Gammaproteobacteria <i>Legionella</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Stenotrophomonas</i>
939	138	5516	5313	4	1		3	Tenericutes <i>Spiroplasma</i>

To determine if the variation in OTU diversity was significantly different between bacterial communities associated to our samples, we compared the microbial diversity using UniFrac. UniFrac significance with all environments together showed that our samples harbored significantly different microbiota ($p = 0.02$). Unweighted clustering with UniFrac showed the tight proximity between the two replicates of each samples. Secondary, samples of each species clustered together. The two

samples of *A. bipustulata* formed the first group, *A. bilineata* samples formed a sister group that clustered with it. Then, the group formed by *D. radicum* samples clustered with the group formed by *Aleochara* samples. And finally, the group formed by *T. rapae* samples was basal and clustered to all other samples (Figure 1).

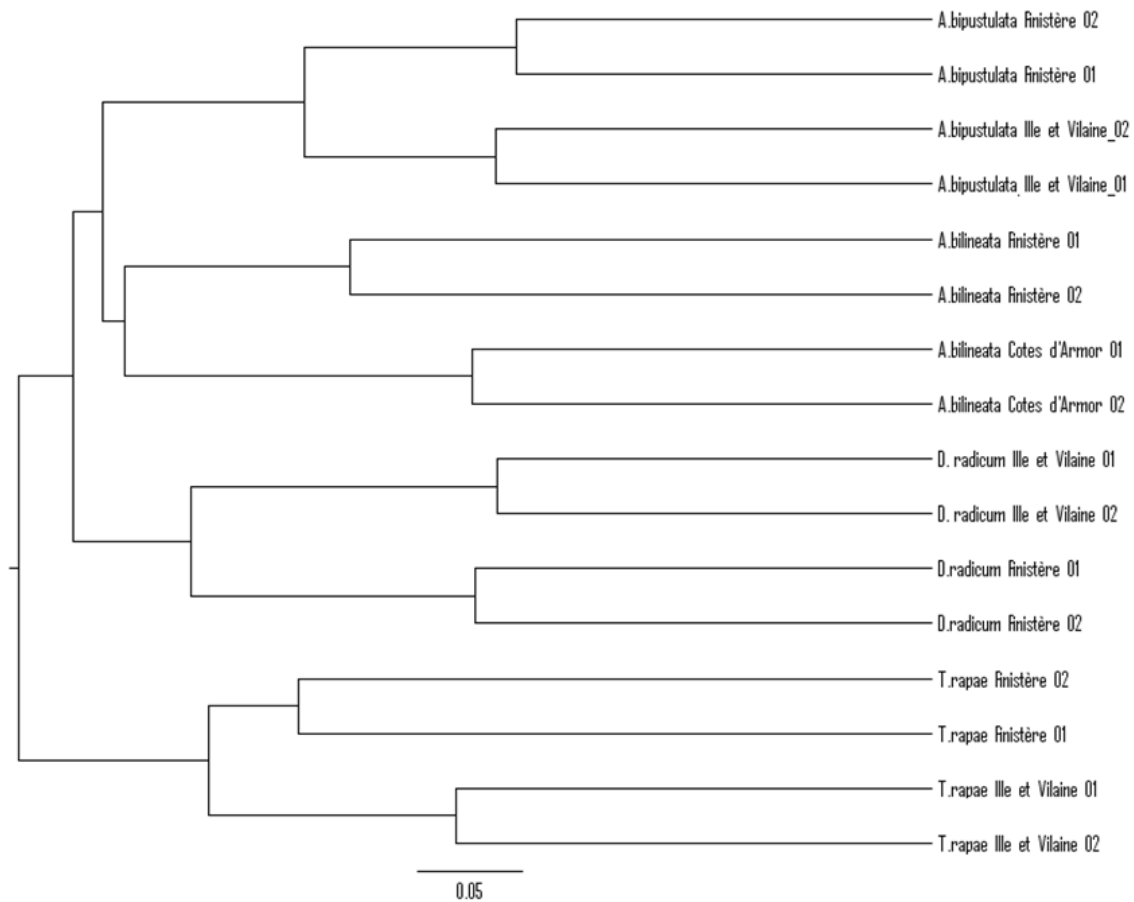


Figure 1: Hierarchical clustering of bacterial communities associated to each samples. Hierarchical clustering of unweighted pairwise UniFrac distances between microbial communities of the different samples based on their distribution of bacterial 16S rDNA sequences.

A phylogenetic analysis of the 454 sequences was performed for the three prevalent heritable bacteria shared by two or more species: *Wolbachia* was detected in the two *Aleochara* species and *D. radicum*, *Rickettsia* was detected in *T. rapae* and *A. bilineata*, *Spiroplasma* was detected in the two *Aleochara* species. For *Wolbachia*, we compared 15 OTU on a sequence length of 370 bp corresponding to *Wolbachia* sequences from clades A-F found in various hosts (Supplementary data, Table 4). It showed two groups of *Wolbachia* in our study. Thirteen OTU that were retrieved in *A. bilineata* and *D. radicum* samples (and retrieved with few sequences in *A. bipustulata* samples and *T. rapae* samples) belonged to clade A and are related to the *Wolbachia* strain found in *Drosophila* sp. Two OTU retrieved in *A. bipustulata* from each population belonged to clade B and form a well-supported group with the strain identified in the flour beetle *Tribolium confusum* (Figure 2). Five OTU identified as *Rickettsia*, respectively one in *A. bilineata* samples ('Côtes d'Armor') and four in *T. rapae* ('Finistère'), were compared to *Rickettsia* sequences found in GenBank, the comparison being based on 375 bp. (Supplementary data, Table 4). The different groups of *Rickettsia* are not well supported by bootstrap values but strains infecting each host seem to be different: *A. bilineata* is infected by a *Rickettsia* strain close to *Acyrtosiphon pisum* endosymbionts in the Bellii group while *T. rapae* sequences are more closely related to *Rickettsia limonae* and to endosymbionts of the parasitoid wasp *Asobara tabida*. (Figure 2). Eleven OTU retrieved in the two *Aleochara* samples (and a few sequences retrieved in *T. rapae* and *D. radicum* samples) belonging to *Spiroplasma* were compared to several sequences found on GenBank using a 365 bp length (Supplementary data, Table 4). Ten OTU retrieved in the four species are closely related to *Spiroplasma* of the weevil *Curculio elephas* while one OTU found in *A. bilineata* from 'Côtes d'Armor' was more closely related to the *Spiroplasma* strain infecting *Aedes* sp. mosquitoes. As for *Wolbachia* OTU, the partial sequences are too short to differentiate strains infecting each species or assess the possibility of horizontal transfers (Figure 2).

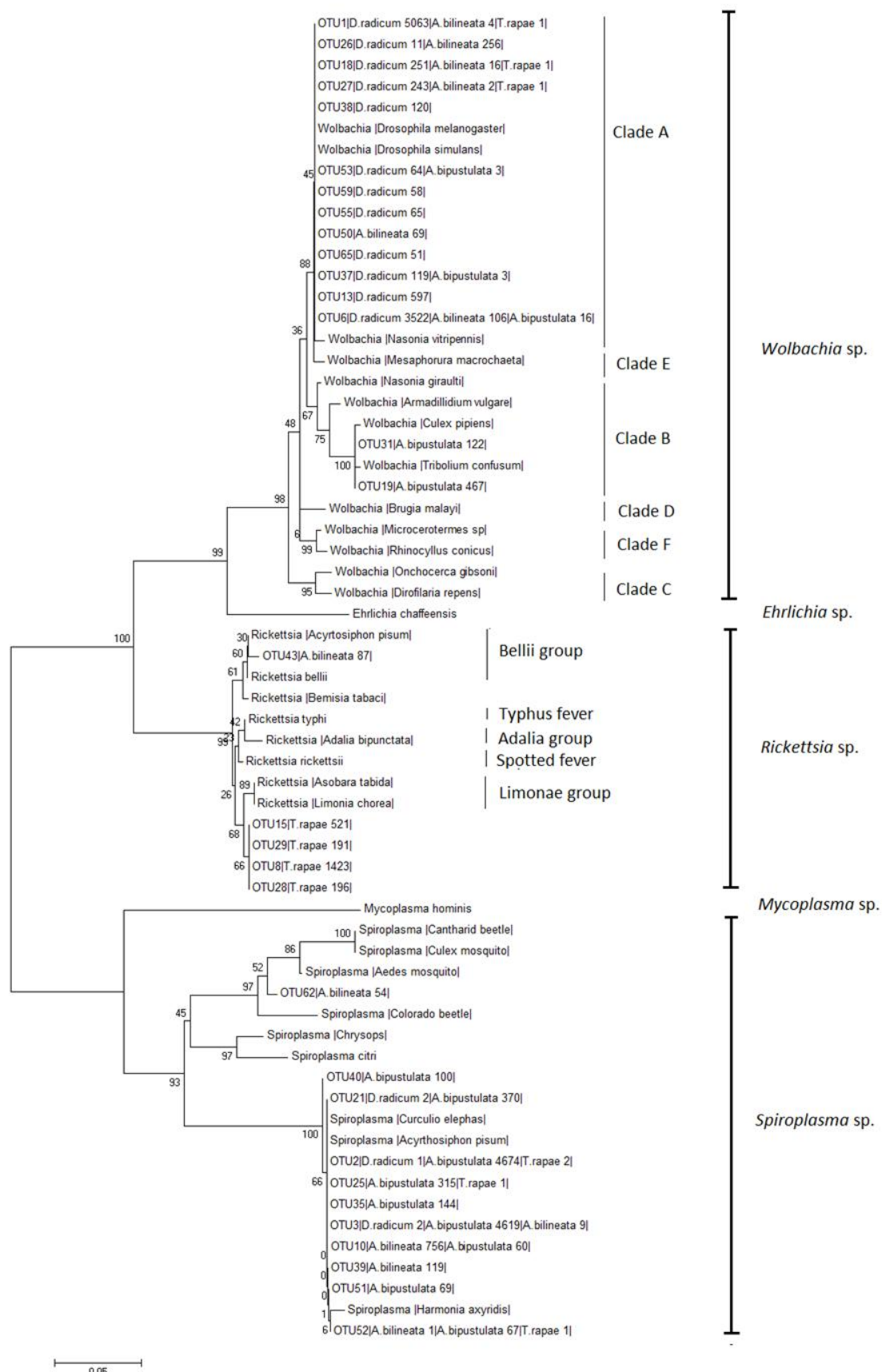


Figure 2: Phylogenetic tree of *Wolbachia*, *Rickettsia* and *Spiroplasma* from our samples and reference insects based on sequence similarity. Unrooted Neighbour-Joining phylogenetic tree of three maternally transmitted endosymbionts 16S rDNA 454 amplicons from our study: *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., *Spiroplasma* sp. and related references selected in GenBank (starting by bacterial genus and host is indicated when available). Numbers on each node are bootstrap values. Numbers at the end of each OTU indicate the number of reads in each species.

Discussion:

In the present study, we describe as exhaustively as possible the bacterial communities associated with four interacting insect species, providing to our knowledge the first description of coleopteran parasitoids bacterial communities (*Aleochara* sp.), and bring culture-independent data about the microbiome of an important crop pest (*D. radicum*). A key aspect of our study is that we compare the bacterial communities of species related by prey/predator or host/parasitoid relationships and find that several OTU (including four different vertically transmitted symbiont species) are shared between at least two insect hosts, suggesting the possibility of horizontal transfers through trophic relationships. The occurrence of such horizontal transfers would however require confirmation because 16S sequence data do not provide a good enough taxonomic resolution to finely characterize bacterial strains. Although our phylogenetic analysis cannot yet validate horizontal transfers between species in cases where they can be suspected, the many bacterial genera that are not shared between trophic partners show on the other hand that the bacteriome of the host (*D. radicum*) is clearly not the main source shaping the bacterial communities of its parasitoids.

Bacterial diversity

Bacterial phyla identified in our study were the same as those identified in other animal models such as mammals (69, 70), reptiles (71), bird (72) or insects (13, 16, 73, 74) but because microbial DNA was isolated from whole bodies of insects, we cannot draw conclusions about the tissue specificity of the microbes observed in our species. Using a 97% homology criterion, we identified 1506 putative bacterial species from five phylum giving 108 different genera, which is comparable to bacterial biodiversity values reported in other insect models (13, 15, 48,75). *Trybliographa rapae* shows a highly diversified community compared to other parasitoid wasps (12). This diversity is probably due in part to our large sampling with 20 individuals or more pooled in each sample. It must be noted that *T. rapae* adults were fed with honey in our laboratory population, a food known to have antibiotic properties (76). In spite of this, *T. rapae* harboured highly diversified bacterial communities, although it remains moderate when compared to that of termites (37). On the other hand, the Chao1 estimator shows that despite our deep sampling (3000 sequences per sample) and the large number of identified OTU, we probably covered less than half of our insect bacterial communities for every sample except for *D. radicum* from 'Ille et Vilaine' which has a normal diversity compared to other studies on insects, with around 16 identified genera (12). Some rare bacteria present at low density in our samples must have been missed due to the high density of bacteria dominating each sample, which explains also that equitability is relatively low. Another

explanation for the low equitability in our samples could be that pyrosequencing is not precisely a quantitative method and the correlation between the number of reads and the natural abundance of bacteria is variable (77). The number of reads can be biased if primers show significantly more affinity to some bacterial phylotypes (78). Contaminations could also influence the comparison of our species. Such contaminations are commonly observed in microbiome studies of phytophagous insects, where some reads correspond to chloroplastic DNA from plants (74). In this study, however, no OTU was common to all samples and only a few were shared between the four species at least in one population. In addition, bacterial communities are much more similar within species than among species and the microbiomes from laboratory-reared parasitoids are not closer to *D. radicum* from 'Ille et Vilaine' (their common host) than to *D. radicum* from 'Finistère' (which was not used in laboratory rearing). Accordingly, we think that trophic contaminations were limited in our samples. The normalization of results led to remove about a half of the sequence reads obtained during sequencing, but such homogenization of library sizes has been shown to be important to compare bacterial communities of different environments (79).

Three bacterial genera are widespread among our samples and are also known to be maternally transmitted bacteria. *Wolbachia* sp. dominated *D. radicum* bacterial communities and was also detected in all but one sample in other species (*T. rapae* 'Ille et Vilaine'). This *Alphaproteobacteria* is the most frequent symbiont in insects and it also infects a large number of arthropod species, often manipulating the reproduction of its host (44). The detection of this genus was expected for *D. radicum* and *Aleochara* samples because of its previous detection in our laboratory. Low detection in *T. rapae* (only 3 sequences) cannot be due to *D. radicum* contaminations that remained in the digestive tracts of emerging *T. rapae* adults because laboratory populations were both reared on *D. radicum* from 'Ille et Vilaine' while this OTU was the same than those found in *D. radicum* from 'Finistère'. *Rickettsia* sp. dominated the *T. rapae* sample from 'Finistère' and was detected at low frequencies in the two wild *A. bilineata* populations sampled. *Rickettsia* sp. is a frequent insect endosymbiont. First known as pathogens of mammals vectored by insects, these bacteria are today recognized to induce (like *Wolbachia*) phenotypic manipulation and fitness effects in their hosts (80, 81, 82). The *Tenericutes* *Spiroplasma* sp. is also known as a facultative endosymbiont in insects; these bacteria are detected in every *Aleochara* sample and seem to particularly dominate *A. bipustulata* communities but are also detected in *D. radicum* samples (4 sequences) and in the *T. rapae* sample from 'Finistère' (3 sequences). *Spiroplasma* sp. are associated both endocellularly and extracellularly with a variety of plants and arthropods. They mostly induce phenotypic manipulation of their hosts such as male-killing (83) but positive fitness effects (protection against parasitic wasps and fungal

diseases) have also been described (84, 85). The *Gammaproteobacteria* of the genus *Stenotrophomonas* sp. and the *Firmicutes* of the genus *Bacillus* sp. are also strongly represented, mostly in the two wild *A. bilineata* samples but also in *T. rapae* and *A. bipustulata* laboratory samples. A bacteria of the genus *Stenotrophomonas* has been recently described to protect its host, the fly *Stomoxys calcitrans*, against *Beauveria bassiana* an entomopathogenic fungus (86). These bacteria are described as environmental bacteria present in water and soils but they are also described as opportunistic gut bacteria that can invade insect guts and prevent the invasion by other pathogenic bacteria (8). Other genera are less represented in terms of number of sequences but are shared by at least two species in our study. *Vagococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Sporosarcina* sp., *Ochrobactrum* sp., *Carnobacterium* sp., *Burkholderia* sp., *Ralstonia* sp., *Delftia* sp., *Achromobacter* sp. are all commonly present environmentally and in insect guts (45). Another *Alphaproteobacteria*, *Asaia* sp. is strongly represented in *T. rapae* samples, dominating the population from 'Ille et Vilaine'. *Asaia* sp. is an acetic acid bacterium which has been described to invade digestive tracts of mosquitoes (where they also invade reproductive tracts; 87), plant hoppers (88) and ants (89). The roles and the fitness effects of *Asaia* sp. on its hosts remain uncertain; other acetic acid bacteria such as *Gluconacetobacter* sp. (detected in *D. radicum* from 'Ille et Vilaine') could also be potential endosymbionts (90). These bacteria were mainly recovered from the gut of insect hosts giving them an extracellular location (90). It do not suggest maternal transmission in our species and it is why these bacteria were not included in the phylogenetic analysis of heritable endosymbionts despite the fact they were shared between *D. radicum* and *T. rapae* samples.

Comparison of bacterial communities

Although samples harboured very different microbial communities in terms of composition, respectively 21% of bacterial genera identified in *A. bilineata* (8/37), 25% for *D. radicum* (5/20), 33% for *A. bipustulata* (11/33) and 38% for *T. rapae* (29/76) were shared by the two populations sampled, giving an idea of the core microbiome of each species. In the same way, only a few OTU were shared between at least two species and the comparison of bacterial communities based on their UniFrac distance clustered as follows: (i) the two replicates of each sample, demonstrating the reproducibility of the sequencing method used, then (ii) samples from the same species and finally, (iii) *Aleochara* sp. samples, showing that the main environmental filter influencing the microbial communities in our samples is probably phylogenetic proximity. Phylogenetic proximity of hosts has already been shown to explain a lot of the variation found in insect bacterial communities (16). Another important factor driving the bacterial community of many insects is diet (15, 91), but it was apparently not the case in

our study since *Aleochara* sp. bacterial communities were closer from that of *D. radicum* than that of *T. rapae* bacterial communities despite the fact that at the larval stage, *Aleochara* sp. and *T. rapae* shared the same diet. *Trybliographa rapae* and *Aleochara* sp. adults have very different diets (the formers are predators, the latter feed on flowers) and bacterial communities can change markedly during larval development (12). It could explain the differences observed here between coleopteran and hymenopteran parasitoids. Finally, even if geographical location seems to induce some variation in the microbial communities of each species, it was not a major driver of the bacterial community composition in our study.

The proximity between communities found in the two *Aleochara* species is interesting because *A. bilineata* samples were directly sampled in fields and were killed as soon as they emerged from their host while *A. bipustulata* individuals were adults sampled from a rearing cage and came from a stock kept in the laboratory for more than ten generations (on *D. radicum* of the 'Ille et Vilaine' population). Two opposite hypotheses could explain these results: (i) the two *Aleochara* species share a similar core microbiome in the wild and rearing them in the laboratory does not modify it significantly, or (ii) the generalist *A. bipustulata* has a microbiome markedly different from that of the specialist *A. bilineata* in the wild, but this community was modified by rearing it on *D. radicum* pupae only, leading to a "specialist diet". The lack of freshly wild-captured *A. bipustulata* samples in our study does not allow us to settle this case, but the potential of laboratory rearing to modify microbiomes is known. For example Lehman et al. (10) found that laboratory rearing reduced the bacterial diversity in the beetle *Poecillus chalcites*. Temperatures in the laboratory are also more regular and most of the year higher than those experienced in the fields sampled, which can raise the densities of several facultative or obligate endosymbionts like *Wolbachia* (92) or *Buchnera* (93). Accordingly, the favourable rearing conditions might explain at least in part the dominance of sequences corresponding to endosymbionts in our laboratory samples.

16s rDNA Phylogenetic analysis of heritable endosymbionts

Three known facultative and maternally transmitted endosymbionts are shared by at least two species in our study and they show very different patterns of phylogenetic proximity. All least two different groups of *Wolbachia* have been detected. One is strictly restricted to *A. bipustulata* samples from both populations while the other is retrieved in all samples except *T. rapae* from 'Ille et Vilaine'. For *Rickettsia*, two groups of sequences have also been identified, one in *A. bilineata* samples and one in *T. rapae* samples. Finally, for two groups of *Spiroplasma* sp. sequences have also been identified, one exclusive to *A. bilineata* samples from Ille et Vilaine and the second shared between

all samples except *T. rapae* from 'Ille et Vilaine'. Each shared OTU could result from past horizontal transfers. Although horizontal transfers remain possible between the host *D. radicum* and its three parasitoids for *Wolbachia* and *Spiroplasma*, it is still possible that the bacterial strains do in fact differ, because the 16S gene shows a limited variability and infection by several strains of *Wolbachia* or *Spiroplasma* has been described in several insect models (94, 95).

Conclusions and perspectives

The description of the rich bacterial communities linked to the host/parasitoid associations we found here is the first step toward further experimentation. Some bacterial genera known to impact fitness of insects have been identified. Especially, the presence of three distinct vertically transmitted endosymbionts in such a small trophic network was unexpected and further studies are needed to assess the possibility of horizontal transfers through trophic interactions. The impact of these endosymbionts on the fitness of their hosts should also be investigated, especially considering that *D. radicum* is a major agricultural pest and that *Aleochara sp.* and *T. rapae* have long been considered as good candidates in conservation or introduction biological control programs (96, 97), *A. bilineata* being moreover a model organism used in ecotoxicology. The use of *Wolbachia* to control the population of crop pests or pathogen vectors has been the subject of intense investigation lately (98) and could also be useful to control populations of the cabbage root fly.

Acknowledgments

We thank Phillipe Vandenkoornhuyse, Sophie Coudouel and Alexandra Dheily from the Environmental genomics platform of Biogenouest for sequencing our samples. We also thank Valérie Chaminade for insect rearing and maintenance.

Bibliography

1. **Hickman CS (2005).** How have bacteria contributed to the evolution of multicellular animals?. *The influence of cooperative bacteria on animal host biology*, 3-33.
2. **Pace NR (1997).** A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science*, 276(5313), 734-740.
3. **Douglas AE (1998).** Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. *Annual review of entomology*, 43(1), 17-37.
4. **Hongoh Y (2011).** Toward the functional analysis of uncultivable, symbiotic microorganisms in the termite gut. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(8), 1311-1325.
5. **Oliver KM, Russell JA, Moran NA, Hunter MS (2003).** Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 1803-1807.
6. **Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, Johnson KN (2008).** *Wolbachia* and virus protection in insects. *Science*, 322(5902), 702-702.
7. **Basset Y, Cizek L, Cuénoud P, Didham RK, Guilhaumon F et al. (2012).** Arthropod diversity in a tropical forest. *Science*, 338(6113), 1481-1484.
8. **Dillon RJ & Dillon VM (2004).** The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 71-92.
9. **Dethlefsen L, McFall-Ngai M, Relman DA (2007).** An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature*, 449(7164), 811-818.
10. **Lehman RM, Lundgren JG, Petzke LM (2009).** Bacterial communities associated with the digestive tract of the predatory ground beetle, *Poecilus chalcites*, and their modification by laboratory rearing and antibiotic treatment. *Microbial ecology*, 57(2), 349-358.
11. **Robinson CJ, Schloss P, Ramos Y, Raffa K, Handelsman J (2010).** Robustness of the bacterial community in the cabbage white butterfly larval midgut. *Microbial ecology*, 59(2), 199-211.
12. **Brucker RM & Bordenstein SR (2011).** The roles of host evolutionary relationships (genus: *Nasonia*) and development in structuring microbial communities. *Evolution*, 66(2), 349-362.

- 13. Hirsch J, Strohmeier S, Pfannkuchen M, Reineke A (2012).** Assessment of bacterial endosymbiont diversity in *Otiorhynchus* spp.(Coleoptera: Curculionidae) larvae using a multitag 454 pyrosequencing approach. *BMC microbiology*, 12(Suppl 1), S6.
- 14. Tang X, Freitak D, Vogel H, Ping L, Shao Y et al. (2012).** Complexity and variability of gut commensal microbiota in polyphagous lepidopteran larvae. *PLoS one*, 7(7), e36978.
- 15. Chandler JA, Lang JM, Bhatnagar S, Eisen JA, Kopp A (2011).** Bacterial communities of diverse *Drosophila* species: ecological context of a host–microbe model system. *PLoS genetics*, 7(9), e1002272.
- 16. Jones RT, Sanchez LG, Fierer N (2013).** A cross-taxon analysis of insect-associated bacterial diversity. *PLoS one*, 8(4), e61218.
- 17. Husseneder C, Ho HY, Blackwell M (2009).** Comparison of the bacterial symbiont composition of the formosan subterranean termite from its native and introduced range. *The open microbiology journal*, 4, 53-66.
- 18. Wong CNA, Ng P, Douglas AE (2011).** Low-diversity bacterial community in the gut of the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Environmental microbiology*, 13(7), 1889-1900.
- 19. Vallet-Gely I, Lemaitre B, Boccard F (2008).** Bacterial strategies to overcome insect defences. *Nature Reviews Microbiology*, 6(4), 302-313.
- 20. Corby-Harris V, Pontaroli AC, Shimkets LJ, Bennetzen JL, Habel KE, Promislow DE (2007).** Geographical distribution and diversity of bacteria associated with natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Applied and environmental microbiology*, 73(11), 3470-3479.
- 21. Lee YK&Mazmanian SK (2010).** Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? *Science* 330:1768–1773.
- 22. McFall-Ngai MJ (2002).** Unseen forces: the influence of bacteria on animal development. *Developmental biology*, 242(1), 1-14.
- 23. Fraune S & Bosch TC (2010).** Why bacteria matter in animal development and evolution. *Bioessays*, 32(7), 571-580.
- 24. Werren JH, Windsor D, Guo L (1995).** Distribution of *Wolbachia* among neotropical arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 262(1364), 197-204.

25. **Martinez J, Longdon B, Bauer S, Chan YS, Miller WJ et al. (2014).** Symbionts Commonly Provide Broad Spectrum Resistance to Viruses in Insects: A Comparative Analysis of *Wolbachia* Strains. *PLoS pathogens*, 10(9), e1004369.
26. **BruckerRM &Bordenstein SR (2012).** Speciation by symbiosis. *Trends in ecology & evolution*, 27(8), 443-451.
27. **Moya A, Peretó J, Gil R, Latorre A (2008).** Learning how to live together: genomic insights into prokaryote–animal symbioses. *Nature Reviews Genetics*, 9(3), 218-229.
28. **Douglas AE (2007).** Symbiotic microorganisms: untapped resources for insect pest control. *TRENDS in Biotechnology*, 25(8), 338-342.
29. **Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH (1995).** Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological reviews*, 59(1), 143-169.
30. **Fukatsu T (2012).** Next-generation sequencing sheds light on intricate regulation of insect gut microbiota. *Molecular ecology*, 21(24), 5908-5910.
31. **Kautz S, Rubin BE, Moreau CS (2013).** Bacterial infections across the ants: frequency and prevalence of *Wolbachia*, *Spiroplasma*, and *Asaia*. *Psyche: A Journal of Entomology*, 2013.
32. **Wang Y & Qian PY. (2009).** Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. *PLoS one*, 4(10), e7401.
33. **Sasaki-Fukatsu K, Koga R, Nikoh N, Yoshizawa K, Kasai S et al. (2006).** Symbiotic bacteria associated with stomach discs of human lice. *Applied and environmental microbiology*, 72(11), 7349-7352.
34. **Brune A &Ohkuma M (2011).** Role of the termite gut microbiota in symbiotic digestion. In *Biology of termites: a modern synthesis* (pp. 439-475). Springer Netherlands.
35. **Baumann P, Baumann L, Lai CY, Rouhbakhsh D, Moran NA, Clark MA (1995).** Genetics, physiology, and evolutionary relationships of the genus *Buchnera*: intracellular symbionts of aphids. *Annual Reviews in Microbiology*, 49(1), 55-94.
36. **Hosokawa T, Kikuchi Y, Meng XY, Fukatsu T (2005).** The making of symbiont capsule in the plataspid stinkbug *Megacopta punctatissima*. *FEMS microbiology ecology*, 54(3), 471-477.

37. **Hongoh Y, Ohkuma M, Kudo T (2003).** Molecular analysis of bacterial microbiota in the gut of the termite *Reticulitermessperatus* (Isoptera; Rhinotermitidae). *FEMS microbiology ecology*, 44(2), 231-242.
38. **Kikuchi Y, Hosokawa T, Fukatsu T (2007).** Insect-microbe mutualism without vertical transmission: a stinkbug acquires a beneficial gut symbiont from the environment every generation. *Applied and environmental microbiology*, 73(13), 4308-4316.
39. **Baumann P (2005).** Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. *Annual Review of Microbiology*, 59, 155-189.
40. **Dedeine F, Bouletreau M, Vavre F (2005).** *Wolbachia* requirement for oogenesis: occurrence within the genus *Asobara* (Hymenoptera, Braconidae) and evidence for intraspecific variation in *A. tabida*. *Heredity*, 95(5), 394-400.
41. **Ferrari J, Darby AC, Daniell TJ, Godfray HCJ, Douglas AE (2004).** Linking the bacterial community in pea aphids with host-plant use and natural enemy resistance. *Ecological Entomology*, 29(1), 60-65.
42. **Kaltenpoth M, Goettler W, Dale C, Stubblefield JW, Herzner G, Roeser-Mueller K, Strohm E (2006).** ‘*Candidatus Streptomyces philanthi*’, an endosymbiotic streptomycete in the antennae of *Philanthus* digger wasps. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(6), 1403-1411.
43. **Duron O, Bouchon D, Boutin S, Bellamy L, Zhou L, Engelstädter J, Hurst GD (2008).** The diversity of reproductive parasites among arthropods: *Wolbachia* do not walk alone. *Bmc Biology*, 6(1), 27.
44. **Werren JH, Baldo L, Clark ME (2008).** *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 741-751.
45. **Colman DR, Toolson EC, Takacs-Vesbach CD (2012).** Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities?. *Molecular Ecology*, 21(20), 5124-5137.
46. **Grünwald S, Pilhofer M, Höll W (2010).** Microbial associations in gut systems of wood-and bark-inhabiting longhorned beetles [Coleoptera: Cerambycidae]. *Systematic and applied microbiology*, 33(1), 25-34.
47. **Osei-Poku J, Mbogo CM, Palmer WJ, Jiggins FM (2012).** Deep sequencing reveals extensive variation in the gut microbiota of wild mosquitoes from Kenya. *Molecular ecology*, 21(20), 5138-5150.+

48. **Ishak HD, Plowes R, Sen,R, Kellner K, Meyer E et al. (2011).** Bacterial diversity in *Solenopsisinvicta* and *Solenopsisgeminata* ant colonies characterized by 16S amplicon 454 pyrosequencing. *Microbial Ecology*, 61(4), 821-831.
49. **Xie W, Meng QS, Wu QJ, Wang SL, Yang X et al. (2012).**Pyrosequencing the *Bemisiatabaci* transcriptome reveals a highly diverse bacterial community and a robust system for insecticide resistance. *PloS one*, 7(4), e35181.
50. **Wishart G, Colhoun EH, Monteith AE (1957).** Parasites of *Hylemya* spp.(*Diptera: Anthomyiidae*) that attack cruciferous crops in Europe. *The Canadian Entomologist*, 89(11), 510-517.
51. **Colhoun J (1953).**Observations on the incidence of club-root disease of brassicae in limed soils in relation to temperature. *Annals of Applied Biology*, 40(4), 639-644.
52. **Wishart G, Doane JF, Maybee GE (1956).** Notes on beetles as predators of eggs of *Hylemyabrassicae* (Bouché)(*Diptera: Anthomyiidae*). *The Canadian Entomologist*, 88(11), 634-639.
53. **Maus, CH, Mittmann B, Peschke K (1998).** Host records of parasitoid *Aleochara*Gravenhorst species (*Coleoptera, Staphylinidae*) attacking puparia of cyclorrhapheousDiptera. *Deutsche EntomologischeZeitschrift*, 45(2), 231-254.
54. **Wäckers FL (2001).** A comparison of nectar-and honeydew sugars with respect to their utilization by the hymenopteran parasitoid*Cotesiaglomerata*. *Journal of Insect Physiology*, 47(9), 1077-1084.
55. **Gehrer L &Vorburger C (2012).** Parasitoids as vectors of facultative bacterial endosymbionts in aphids. *Biology letters*, rsbl20120144.
56. **Chiel E, Zchori-Fein E, Inbar M, Gottlieb Y, Adachi-Hagimori T et al. (2009).** Almost there: transmission routes of bacterial symbionts between trophic levels. *PLoS One*, 4(3), e4767.
57. **Le Clec'h W, Chevalier FD, Genty L, Bertaux J, Bouchon D, Sicard M (2013).** Cannibalism and predation as paths for horizontal passage of *Wolbachia*between terrestrial isopods. *PloS one*, 8(4), e60232.
58. **Huigens ME, De Almeida RP, Boons PAH, Luck RF, Stouthamer R (2004).**Natural interspecific and intraspecific horizontal transfer of parthenogenesis-inducing *Wolbachia* in *Trichogramma*wasps. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1538), 509-515.

59. Maus C, Peschke K, Dobler S (2001). Phylogeny of the Genus *Aleochara* Inferred from Mitochondrial Cytochrome Oxidase Sequences (*Coleoptera: Staphylinidae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18(2), 202-216.
60. Keymeulen M, Hertveldt L, Pelerents C (1981). Methods for improving both the quantitative and qualitative aspects of rearing *Delia brassicae* for sterile release programmes. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 30(3), 231-240
61. Neveu N, Kacem N, Nénon JP, Finch S, Brunel E (1996). A method for rearing *Trybliographarapae* W. on *Delia radicum* L. *Bulletin OILB/SROP*, 19(11), 173-178.
62. Yu Z & Morrison M (2004). Comparisons of different hypervariable regions of rrs genes for use in fingerprinting of microbial communities by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and environmental microbiology*, 70(8), 4800-4806.
63. Terrat S, Christen R, Dequiedt S, Lelièvre M, Nowak V et al. (2012). Molecular biomass and MetaTaxogenomic assessment of soil microbial communities as influenced by soil DNA extraction procedure. *Microbial biotechnology*, 5(1), 135-141.
64. Terrat S, Plassart P, Bourgeois E, Ferreira S, Dequiedt S et al. (2014). Meta-barcoded evaluation of the ISO standard 11063 DNA extraction procedure to characterize soil bacterial and fungal community diversity and composition. *Microbial biotechnology*.
65. Cole JR, Wang Q, Cardenas E, Fish J, Chai B et al. (2009). The Ribosomal Database Project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic acids research*, 37(suppl 1), D141-D145.
66. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T et al. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*, 41: D590–D596.
67. Lozupone C & Knight R (2005). UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8228-8235.
68. Price MN, Dehal PS, Arkin AP (2010). FastTree 2—approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS One*, 5(3), e9490.
69. Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR et al. (2008). Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*, 320(5883), 1647-1651.

- 70. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R (2009).** Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science*, 326(5960), 1694-1697.
- 71. Costello EK, Gordon JI, Secor SM, Knight R (2010).** Postprandial remodeling of the gut microbiota in Burmese pythons. *The ISME Journal*, 4(11), 1375-1385.
- 72. Bennett DC, Tun HM, Kim JE, Leung FC, Cheng KM (2013).** Characterization of cecal microbiota of the emu *Dromaius novaehollandiae*. *Veterinary Microbiology*, 166(1), 304-310.
- 73. Vasanthakumar A, Handelsman J, Schloss PD, Bauer LS, Raffa KF (2008).** Gut microbiota of an invasive subcortical beetle, *Agrilus planipennis* Fairmaire, across various life stages. *Environmental Entomology*, 37(5), 1344-1353.
- 74. Shelomi M, Lo WS, Kimsey LS, Kuo CH (2013).** Analysis of the gut microbiota of walking sticks (Phasmatodea). *BMC Research Notes*, 6(1), 368.
- 75. Arias-Cordero E, Ping L, Reichwald K, DelbH, Platzer M, Boland W (2012).** Comparative evaluation of the gut microbiota associated with the below-and above-ground life stages (larvae and beetles) of the forest cockchafer, *Melolontha hippocastani*. *PLoS One*, 7(12), e51557.
- 76. Molan PC (2006).** The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity.
- 77. Amend AS, Seifert KA, Bruns TD (2010).** Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: does read abundance count?. *Molecular Ecology*, 19(24), 5555-5565.
- 78. Teske A & Sorensen K (2008).** Uncultured archaea in deep marine subsurface sediments: have we caught them all? *The ISME Journal* 2, 3–18.
- 79. Gihring, TM, Green, SJ, & Schadt, CW (2012).** Massively parallel rRNA gene sequencing exacerbates the potential for biased community diversity comparisons due to variable library sizes. *Environmental Microbiology*, 14(2), 285-290.
- 80. Hagimori T, Abe Y, Date S, Miura K (2006).** The first finding of a *Rickettsia* bacterium associated with parthenogenesis induction among insects. *Current Microbiology*, 52: 97–101.
- 81. Sakurai M, Koga R, Tsuchida T, Meng XY, Fukatsu T (2005).** *Rickettsia* symbiont in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: novel cellular tropism, effect on host fitness, and interaction with the essential symbiont *Buchnera*. *Applied and environmental microbiology*, 71(7), 4069-4075.

- 82. Himler AG, Adachi-Hagimori T, Bergen JE, Kozuch A, Kelly SE et al. (2011).** Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias. *Science*, 332(6026), 254-256.
- 83. Hurst GDD, Jiggins FM, Majerus MEN (2003a).** Inherited microorganisms that selectively kill male hosts: the hidden players of insect evolution? *In Insect Symbiosis*. Bourtzis, K., and Miller, T.A. (eds). New York, NY, USA: CRC Press, pp. 177–197.
- 84. Xie J, Vilchez I, Mateos M (2010).** Spiroplasma bacteria enhance survival of *Drosophila hydei* attacked by the parasitic wasp *Leptopilina heterotoma*. *PLoS One*, 5(8), e12149.
- 85. Łukasik P, van Asch M, Guo H, Ferrari J, Godfray CJ (2013).** Unrelated facultative endosymbionts protect aphids against a fungal pathogen. *Ecology letters*, 16(2), 214-218.
- 86. Moraes APR, Videira SS, Bittencourt VREP, Bittencourt AJ (2014).** Antifungal activity of *Stenotrophomonas maltophilia* in *Stomoxys calcitrans* larvae. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(2), 194-199.
- 87. Favia G, Ricci I, Damiani C, et al. (2007).** Bacteria of the genus *Asaia* stably associate with *Anopheles stephensi*, an Asian malarial mosquito vector. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 9047–9051.
- 88. Gonella E, Negri I, Marzorati M, Mandrioli M, Sacchi L et al. (2011).** Bacterial endosymbiont localization in *Hyalesthes obsoletus*, the insect vector of Bois noir in *Vitis vinifera*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(4), 1423-1435.
- 89. Kautz S, Rubin BE, Russell JA, Moreau CS (2013).** Surveying the microbiome of ants: Comparing 454 pyrosequencing with traditional methods to uncover bacterial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(2), 525-534.
- 90. Crotti E, Rizzi A, Chouaia B, Ricci I, Favia G et al. (2010).** Acetic acid bacteria, newly emerging symbionts of insects. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(21), 6963-6970.
- 91. Andert J, Marten A, Brandl R, Brune A (2010).** Inter- and intraspecific comparison of the bacterial assemblages in the hindgut of humivorous scarab beetle larvae (*Pachnoda* spp.). *FEMS Microbiology Ecology*, 74: 439–49.
- 92. Dutton TJ & Sinkins SP (2004).** Strain-specific quantification of *Wolbachia* density in *Aedes albopictus* and effects of larval rearing conditions. *Insect Molecular Biology*, 13(3), 317-322.

- 93. Humphreys NJ & Douglas AE (1997).** Partitioning of Symbiotic Bacteria between Generations of an Insect: a Quantitative Study of a *Buchnera* sp. in the Pea Aphid (*Acyrtosiphon pisum*) Reared at Different Temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(8), 3294-3296.
- 94. Reuter M & Keller L (2003).** High levels of multiple *Wolbachia* infection and recombination in the ant *Formica exsecta*. *Molecular Biology and Evolution*, 20(5), 748-753.
- 95. Haselkorn TS, Markow TA, Moran NA (2009).** Multiple introductions of the *Spiroplasma* bacterial endosymbiont into *Drosophila*. *Molecular Ecology*, 18(6), 1294-1305.
- 96. Andreassen LD, Kuhlmann U, Mason PG, Holliday NJ (2007).** Classical biological control of the cabbage root fly, *Delia radicum*. *Canadian canola: an analysis of research needs. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 2(086), 1-13.
- 97. Andreassen LD, Kuhlmann U, Mason PG, Holliday NJ (2009).** Host range testing of a prospective classical biological control agent against cabbage maggot, *Delia radicum*, in Canada. *Biological Control*, 48(2), 210-220.
- 98. Hughes GL & Rasgon JL (2014).** Transinfection: a method to investigate *Wolbachia*–host interactions and control arthropod-borne disease. *Insect Molecular Biology*, 23(2), 141-151.

Supplementary data

Table 4: Reference sequences of 16S rDNA gene corresponding to *Wolbachia*, *Spiroplasma*, *Rickettsia*, *Ehrlichia* and *Mycoplasma* with indicated accession number on GenBank, the bacteria studied, host species and host class.

Accession number	Bacteria	Host species	Host class
ref NR 074500.1	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	Arachnids
gi 110815963 gb AF443616.3	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Homo sapiens</i>	Mammals
gi 1147763 gb U42084.1	<i>Rickettsia</i> sp.	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Insects
gi 450812 gb U04163.1	<i>Rickettsia</i> sp.	<i>Adaliabipunctata</i>	Insects
gi 224495120 gb FJ603467.1	<i>Rickettsia</i> sp.	<i>Asobaratabida</i>	Insects
gi 71082704 gb DQ077707.1	<i>Rickettsia</i> sp.	<i>Bemisia tabaci</i>	Insects
gi 33340523 gb AF322443.1	<i>Rickettsia</i> sp.	<i>Limoniachorea</i>	Insects
gi 535750 gb L36103.1	<i>Rickettsia bellii</i>	<i>Amblyomma</i> sp.	Arachnids
gi 506787 gb U11021.1	<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Derma-centor andersoni</i>	Arachnids
gi 538440 gb L36221.1	<i>Rickettsia typhi</i>	<i>Xenopsylla cheopis</i>	Insects
gi 410992257 gb JX943566.1	<i>Spiroplasma</i> sp.	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Insects
gi 37782186 gb AY189129.1	<i>Spiroplasma</i> sp.	<i>Aedes</i> sp.	Insects
gi 112785087 gb DQ861914.1	<i>Spiroplasma cantharicola</i>	Cantharid beetle	Insects
gi 37782184 gb AY189127.1	<i>Spiroplasma chrysopicola</i>	<i>Chrysop</i> sp.	Insects
gi 37782192 gb AY189305.1	<i>Spiroplasma leptinotarsae</i>	Colorado beetle	Insects
gi 37782187 gb AY189130.1	<i>Spiroplasma</i> sp.	<i>Culex</i> sp.	Insects
gi 387865304 gb JN100091.1	<i>Spiroplasma</i> sp.	<i>Curculio elephas</i>	Insects
gi 4582256 emb AJ132412.1	<i>Spiroplasma</i> sp.	<i>Harmonia axyridis</i>	Insects
gi 296005972 gb HM015669.1	<i>Spiroplasma citri</i>	<i>Citrus</i> sp.	Plants
gi 666437130 gb KJ814199.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Armadillidium vulgare</i>	Crustaceans
gi 2952471 gb AF051145.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Brugia malayi</i>	Nematodes
gi 48500 emb X61768.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Culex pipiens</i>	Insects
gi 9857236 emb AJ276500.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Dirofilaria repens</i>	Nematodes
gi 435171 emb Z28983.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Drosophila melanogaster</i>	Insects
gi 29469648 gb AY227742.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Drosophila simulans</i>	Insects
gi 18076426 emb AJ292347.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Mesaphorura macrochaeta</i>	Insects
gi 21322700 emb AJ422184.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Microcerotermes</i> sp.	Nematodes
gi 149138 gb M84689.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Nasonia giraulti</i>	Insects
gi 149136 gb M84687.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Nasonia vitripennis</i>	Insects
gi 9857235 emb AJ276499.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Onchocerca gibsoni</i>	Nematodes
gi 175827 gb M85267.1 X	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Rhinocyllus conicus</i>	Insects
gi 510558 emb X65674.1	<i>Wolbachia</i> sp.	<i>Tribolium confusum</i>	Insects

Chapitre 6 : Conclusions et perspectives

I. Synthèse des travaux

A ce jour il existe relativement peu d'études concernant les coléoptères parasitoïdes, malgré le fait que cet ordre comporte quelques 5000 espèces ayant ce mode de développement mais une biologie très différente de la majorité des parasitoïdes (qui sont des hyménoptères). En particulier, les coléoptères parasitoïdes adultes sont à la fois parasitoïdes et prédateurs des stades immatures des hôtes. De plus, leurs femelles pondent dans le milieu à proximité des hôtes, ce qui transfère à leurs larves de premier stade le rôle de recherche et de sélection de l'hôte dans lequel elles effectueront leur développement. Les travaux précédemment réalisés sur nos deux espèces d'étude avaient permis de mettre en évidence chez les adultes et les larves des choix comportementaux proches de ceux des hyménoptères parasitoïdes, et en particulier que les femelles et les larves étaient capables de faire des choix permettant d'optimiser leur valeur adaptative (Fournet 2000, Lizé 2007).

Dans ce travail de thèse, nous avons voulu mettre en évidence des mécanismes comportementaux qui pourraient permettre à deux espèces de parasitoïdes présentant des degrés de spécialisation à l'hôte différents, de partager les ressources communes à chaque stade de développement et de coexister dans le milieu naturel. Plus particulièrement nous avons voulu étudier l'impact de la compétition directe entre larves et entre adultes sur le comportement des deux espèces aux différents niveaux de compétition. Nous avons également décrit les communautés de partenaires bactériens des deux compétiteurs, comme un préalable à l'étude de l'impact potentiel du microbiome dans la compétition.

Les hypothèses proposées au début de ce travail étaient que :

- Les deux espèces coexistent de manière stable dans le milieu naturel en dépit de traits d'histoire de vie supérieurs du généraliste (ici longévité et fécondité supérieures) car le spécialiste compense ce handicap par des capacités compétitrices supérieures et une meilleure adaptation comportementale à la présence du compétiteur lors de la compétition directe aux stades adulte et/ou larvaire.
- Les deux espèces possèdent des communautés bactériennes différentes, dont les membres pourraient participer à la coexistence entre les deux espèces via des impacts sur la fitness des individus ou sur la relation hôte/parasitoïde.

Le premier manuscrit décrit les modifications du comportement des femelles adultes de l'espèce spécialiste *A. bilineata* lorsqu'elles se trouvent en présence de femelles conspécifiques ou du généraliste *A. bipustulata* (voire d'une espèce non compétitrice). Les expériences réalisées ont plus spécifiquement permis de mettre en évidence les modifications comportementales induites par la

présence de compétiteurs au sein des patchs d'hôtes. Elles montrent que (i) les femelles sont capables d'adapter leur comportement à la présence de compétiteurs au sein des patchs d'hôtes et préfèrent pondre dans des sites sans compétiteurs lorsqu'elles ont le choix, mais que (ii) cette présence n'a pas d'impact décelable dans notre dispositif sur la prédation des femelles. De plus, les femelles semblent préférer la compétition interspécifique à la compétition intraspécifique puisqu'elles pondent davantage et exercent un plus haut niveau de prédation dans les sites qui présentent une compétition interspécifique lorsqu'elles ont le choix avec des sites où des femelles conspécifiques sont présentes. Cette expérience a été complétée par des observations comportementales qui ont mis en évidence l'agressivité des femelles spécialistes lorsqu'elles rencontrent un compétiteur dans un patch d'hôtes qu'elles ont pu examiner et exploiter pendant 24h. Si les facteurs influençant l'émission des comportements agressifs n'ont pas été clairement identifiés, il semblerait qu'ils puissent être émis pour défendre les œufs pondus et éviter la prédation intragilde. Par ailleurs, les interactions agressives pourraient jouer un rôle dans le partage des patchs d'hôtes entre les femelles spécialistes ce qui, en limitant la compétition intraspécifique pour l'exploitation des patchs d'hôtes par rapport à la compétition interspécifique, pourrait faciliter la coexistence avec le compétiteur généraliste et compenser les populations souvent plus importantes de ce dernier dans le milieu naturel. La présence directe ou la rencontre préalable de compétiteurs ont déjà été décrites comme pouvant modifier le nombre d'œufs pondus chez des femelles de différents insectes prédateurs ou parasitoïdes. Chez les prédateurs de patch d'insectes (par exemple les coccinelles et les chrysopes qui s'attaquent aux colonies de pucerons) et les parasitoïdes grégaires, les femelles ont tendance à réduire la taille de leur ponte après la rencontre avec un compétiteur, ce qui diminue l'impact de la compétition sur leur progéniture. Au contraire, chez les parasitoïdes solitaires, la rencontre avec des compétiteurs a tendance à pousser les femelles à exploiter plusieurs fois le même hôte, ce qui à la fois diminue son attractivité pour d'autres compétiteurs et augmente la probabilité de remporter le combat larvaire en cas de multiparasitisme (Visser 1996, Agarwala *et al.* 2003). L'originalité de la biologie des *A. bilineata* fait que bien qu'ils utilisent une stratégie de parasitoïde solitaire pour l'exploitation de l'hôte, leurs femelles semblent adopter un comportement de parasitoïde grégaire ou de prédateur de patch d'insectes puisqu'elles réduisent la taille de leur ponte (au lieu de l'augmenter) dans les sites présentant la plus forte pression de compétition potentielle pour leurs descendants. Outre que ce choix montre encore une fois l'implication des femelles adultes *A. bilineata* dans le succès parasitaire de leurs larves, il montre également que les femelles de l'espèce spécialiste sont capables de discriminer les femelles conspécifiques des femelles appartenant à l'espèce généraliste et adaptent leur choix de site de ponte, leur niveau de prédation ainsi que leur agressivité en fonction du compétiteur. L'autre originalité dans notre modèle d'insectes en compétition en comparaison des autres études sur les

parasitoïdes, est que l'espèce qui semble dominer la compétition intrinsèque au stade larvaire et potentiellement au stade adulte est capable de discriminer les compétiteurs de l'autre espèce. Or, chez les hyménoptères parasitoïdes, les cas de discrimination interspécifique sont relativement rares et ce sont en général les compétiteurs les plus faibles qui en sont capables, ce qui leur évite d'exploiter un hôte dans lequel leur progéniture n'aurait aucune chance (van Lenteren 1981, Vet *et al.* 1984, Turlings *et al.* 1985, Bakker *et al.* 1985, van Baaren *et al.* 1994, Royer *et al.* 1999, Agboka *et al.* 2002, Ardeh *et al.* 2005, van Alphen et Visser 1990). Cependant, la discrimination interspécifique peut aussi être adaptative pour l'espèce qui domine, à condition que le multiparasitisme réduise fortement la fitness (McBrien et Mackauer 1990). Ceci accrédite notre théorie selon laquelle la pression évolutive exercée par le généraliste sur le spécialiste serait à l'origine des adaptations comportementales que nous avons pu observer chez *A. bilineata*.

Les expériences décrites dans le deuxième manuscrit nous ont permis de montrer que l'espèce spécialiste *A. bilineata* domine son compétiteur généraliste lorsque les larves prospectent simultanément à proximité de l'hôte. Nous avons également observé que, comme chez d'autres parasitoïdes, un délai entre l'arrivée des deux larves à proximité de l'hôte modifie l'issue de la compétition larvaire en favorisant la première larve installée. Toutefois, dans le cas de nos deux espèces, même quand des larves de l'espèce spécialiste *A. bilineata* arrivent 24 heures après les larves *A. bipustulata*, elles émergent encore d'environ 50% des hôtes. Ces résultats et ceux obtenus par Fournet *et al.* (1999) pour un intervalle de 96 heures (qui ne correspondait pas forcément à un combat entre deux larves de premier stade) illustrent l'importance de la compétition larvaire dans le processus de coexistence entre deux espèces chez qui, comme prédit par la théorie, les capacités compétitives supérieures de l'espèce spécialiste s'opposent à la plus grande abondance de l'espèce généraliste dans le milieu naturel. La majorité des études sur la compétition entre espèces parasitoïdes ayant des spectres d'hôtes différents ont pris comme modèles des espèces dont les stratégies d'exploitation des hôtes étaient différentes (koinobionte vs idiobionte ; endoparasitoïde vs ectoparasitoïde ; solitaire vs grégaire) et, dans les quelques cas où les stratégies étaient identiques, ont montré des résultats contrastés (Laing et Corrigan 1987, Iwao et Ohsaki 1996, De Moraes *et al.* 1999, Stilmant 2008). Le fait que nos deux coléoptères parasitoïdes utilisent la même stratégie d'exploitation des hôtes (ectoparasitoïde idiobionte) et qu'ils attaquent le même stade larvaire de leur hôte (la nymphe) supprime l'impact de ces facteurs dans la compétition larvaire et nous a donc permis d'étudier l'issue de la compétition sans biais. Nos résultats se montrent cohérents avec la théorie selon laquelle une espèce spécialisée doit être plus performante sur une ressource commune qu'une espèce plus généraliste pour que ces espèces puissent coexister de manière stable (Mac Arthur 1962, Force 1974, Tilman 2004). Par ailleurs, comme dans de nombreuses études sur l'issue

du multiparasitisme chez les parasitoïdes, un délai entre l'attaque des deux larves sur l'hôte modifie l'issue de la compétition.

Enfin, dans le troisième manuscrit, nous avons décrit pour la première fois les microbiomes de trois espèces de parasitoïdes en compétition et celui de leur hôte, *D. radicum*. En comparant ces communautés bactériennes, nous avons montré que le principal filtre environnemental qui les structure au sein de ce réseau trophique était la proximité phylogénétique des espèces. Ainsi, chaque espèce est associée à une communauté bactérienne distincte (pouvant varier secondairement en fonction de la provenance géographique des populations). Dans un second temps, et malgré que les individus de l'espèce spécialiste *A. bilineata* soient issus directement du terrain et comparés à des individus des autres espèces élevés en laboratoire, une grande proximité entre les communautés bactériennes des deux espèces de staphylins a été mise en évidence. Enfin, les communautés bactériennes des deux staphylins sont plus proches de celles de leur hôte que de celles de leur compétiteur hyménoptère qui partage pourtant le même hôte. Plusieurs partenaires bactériens particulièrement intéressants ont également été identifiés (*Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Asaia*, *Gluconacetobacter*) dont certains réputés pour être transmis maternellement (*Wolbachia*, *Rickettsia*, *Spiroplasma*). Pour ces derniers, notre étude permet de soupçonner la possibilité de transferts horizontaux au sein de cette communauté d'espèces, même si la résolution taxonomique utilisée ici (gène 16S, peu variable) est insuffisante pour le confirmer. Les partenaires bactériens identifiés chez nos espèces sont globalement proches de ceux retrouvés dans d'autres études sur les insectes (Vasanthakumar *et al.* 2008, Hirsch *et al.* 2012, Jones *et al.* 2013, Shelomi *et al.* 2013) et d'autres animaux (Ley *et al.* 2008, Costello *et al.* 2009, 2010, Bennett *et al.* 2013). En termes de composition des communautés bactériennes, les résultats sont difficilement comparables avec d'autres travaux du fait des grandes différences méthodologiques qui existent dans ce genre d'études, mais la diversité identifiée pour chaque échantillon semble globalement cohérente avec les autres publications sur les microbiomes d'insectes. En ce qui concerne la comparaison des communautés bactériennes au sein d'un réseau trophique, on ne peut pas comparer avec d'autres études tout simplement car ces études manquent encore, malgré le fait que des interactions de type prédateurs/proies ou hôtes/parasitoïdes puissent être des routes de transmission pour les bactéries. Toutefois, le fait que ce soit principalement la proximité phylogénétique des hôtes qui structure les communautés bactériennes au sein de notre réseau trophiques semble, là encore, être cohérent avec une autre étude portant sur plusieurs ordres d'insectes (Jones *et al.* 2013).

Pour conclure sur ces travaux avant de présenter leurs perspectives, *A. bilineata* et *A. bipustulata* occupent des niches écologiques proches et utilisent la même stratégie d'exploitation de la ressource

tant au stade adulte que larvaire, mais elles se distinguent en réalité à tous les niveaux étudiés. Ce travail a permis de mettre en évidence des modifications dans les choix comportementaux faits par les femelles adultes de l'espèce spécialiste induites par la présence directe de compétiteurs que nous avons attribuées à la pression évolutive plus importante subie par l'espèce la plus spécialisée sur la ressource lors de la compétition. Elle doit être complétée par la même étude sur les femelles de l'espèce généraliste dans les mêmes conditions et, si celles-ci ne modifient pas leurs comportements, nous pourrions démontrer le lien entre asymétrie dans la compétition, spécialisation à l'hôte et adaptation des capacités compétitives. Le fait que les femelles de l'espèce spécialiste favorisent la compétition interspécifique en comparaison de la compétition intraspécifique, associé à la dominance de leurs larves lors de la compétition larvaire, permettrait à l'espèce spécialiste de compenser les traits d'histoire de vie adultes plus favorables de l'espèce généraliste et pourrait donc expliquer, au moins en partie, la coexistence des deux espèces d'*Aleochara* dans le milieu naturel. Enfin, si le rôle des communautés bactériennes dans ce schéma n'est pas encore défini, l'étude de l'impact de chaque partenaire sur la fitness et la niche écologique des individus constitue de nouvelles dimensions de leur niche écologique à explorer. Le tableau 1 résume les résultats des différentes études sur les traits écologiques associés à chaque espèce.

Tableau 1 récapitulatif des traits écologiques associés aux deux espèces de staphylin. **En gras**, les résultats obtenus dans ce travail de thèse.

Traits écologiques		<i>A. bilineata</i>	<i>A. bipustulata</i>	références
	Spectre d'hôte	Spécialiste (1 genre)	Généraliste (plusieurs genres différents)	Maus <i>et al.</i> 1998
Adultes	Taille des populations sur le terrain comparée	+	+++	Fournet 2000, Josso 2012
	Fécondité journalière moyenne (œufs/jour) (20°C)	8,5	11	Fournet <i>et al.</i> 2000
	Longévité maximale en laboratoire (jours) (20°C)	133	169	Fournet <i>et al.</i> 2000
	Emergence sur le terrain comparée	Plus tardive	Plus précoce	Fournet 2000
	Discrimination des compétiteurs	oui	??	Bili 2014
	Compétition par exploitation	oui	oui	non publié
	Compétition par interférence	oui	??	Bili 2014
	Prédation intragilde	cannibalisme et prédation intragilde	??	Lizé 2007
Larves	Stratégie d'exploitation des hôtes	idiobionte ectoparasitoïde	idiobionte ectoparasitoïde	Fuldner 1960
	Temps de développement (jours) (20°C)	31	35	Fournet <i>et al.</i> 2000
	Diapause	larve de premier stade	nymphé	Fuldner 1960
	Discrimination des compétiteurs	interspécifique/parentèle	hôte parasité	Fournet <i>et al.</i> 1999
	Issue compétition interspécifique (20°C)	dominant	dominé	Bili 2014
Bactéries	Communautés bactériennes	Populations sauvages	Populations élevées en laboratoire	Bili 2014
	Wolbachia	présente	présente	Bili 2014
	Spiroplasma	présente	présente	Bili 2014
	Rickettsia	présente	absente	Bili 2014
	Stenotrophomonas	présente	présente	Bili 2014
	Pseudomonas	présente	absente	Bili 2014

II. Les perspectives de cette étude

Cette étude ouvre plusieurs perspectives pour mieux comprendre les interactions entre femelles et entre larves, et l'effet des partenaires bactériens sur la fitness de chaque espèce et leur interaction de compétition.

Chez les femelles adultes, nous avons pu valider un dispositif permettant de tester le niveau de prédation et de ponte d'une femelle lorsqu'elle a le choix entre des patchs d'hôtes comportant la présence de différents insectes. Malgré le fait que les insectes dont on veut tester la présence soient enfermés dans un tube Eppendorf, il semblerait que les possibilités d'interactions par les petits trous percés dans l'Eppendorf soient suffisantes pour induire une réponse comportementale. Ces interactions peuvent être directes via des contacts antennaires entre la femelle testée et les compétitrices enfermées dans le tube. Ces interactions peuvent également se faire via l'émission de composés chimiques volatils qui peuvent être émis par les insectes enfermés dans le tube lors des interactions avec la femelle testée. L'utilisation de composés chimiques dans les interactions agressives entre adultes est fréquente et de nombreux cas ont été décrits chez les coléoptères staphylins qui possèdent souvent des glandes spécialisées (Huth et Dettner 1990). Des composés impliqués dans la compétition entre mâles ont également été identifiés chez *Aleochara curtula* (Peschke *et al.* 1996). Plus indirectement, des composés volatils peuvent également être émis par les fèces produits par les individus enfermés dans le tube et servir d'indice de la présence de compétiteurs pour la femelle testée. Afin de trancher entre ces hypothèses, il faudrait tester uniquement la présence de fèces dans les tubes Eppendorf troués du dispositif ou réaliser une capture des odeurs émises pendant les interactions entre femelles que nous pourrions ensuite identifier dans un système de chromatographie en phase gazeuse associé à un spectromètre de masse. Le dispositif de choix utilisé dans ce travail devrait également permettre d'étudier les choix comportementaux des femelles de l'espèce généraliste *A. bipustulata* pour les mêmes espèces d'insectes que celles utilisées pour l'espèce spécialiste. L'effet de la présence d'autres espèces, par exemple des carabes du genre *Bembidion* sp. ou d'autres carabes avec lesquels les deux staphylins sont en compétition pour la prédation des œufs ou des autres stades immatures de leurs hôtes, pourrait être testé. On peut émettre l'hypothèse que la présence de ces compétiteurs pourrait influencer le niveau de prédation ou la ponte (Prasad et Snyder 2004).

Toujours chez les femelles adultes, les observations comportementales ont permis de montrer l'agressivité des femelles de l'espèce spécialiste *A. bilineata* lorsqu'elles rencontraient un compétiteur dans un patch d'hôtes et tout particulièrement lorsqu'elles y avaient résidé pendant 24 heures. Toutefois, le dispositif utilisé ne permet pas de déterminer formellement l'issue des

confrontations car aucune des deux femelles ne pouvait sortir de l'arène. Il conviendrait de mettre au point un nouveau protocole pour pallier cette limitation. De plus, ce travail n'a pas permis de valider formellement la supériorité des femelles spécialistes dans la compétition par interférence avec leurs compétitrices *A. bipustulata* car dans notre population de laboratoire, seule une faible proportion des femelles *A. bipustulata* développait des œufs après plusieurs semaines (~25%, observations personnelles). Les différences comportementales observées entre les deux espèces, en particulier le fait que les femelles *A. bipustulata* soient moins agressives et s'enfuient plus facilement après un contact, pourrait être simplement due au fait que ces femelles n'avaient pas la possibilité de pondre (pas d'œufs matures) dans ces expériences. Les facteurs influençant l'investissement des femelles dans la compétition et liés à la valeur de l'hôte, RV (tels que l'âge ou l'expérience des femelles testées) ainsi que les facteurs influençant les capacités compétitives (RHP) des deux espèces (tels que le poids et la taille des individus) pourraient également être identifiés par une étude des corrélations. Nous pensons que ces études comportementales pourraient permettre de mettre en évidence de nouvelles différences entre les deux espèces dans l'exploitation des patchs d'hôtes. Encore une fois, il est possible que des odeurs soient émises notamment par les femelles dans ces interactions et qu'elles puissent y jouer un rôle comme cela a été montré dans une autre étude sur les parasitoïdes (Goubault *et al.* 2006).

Chez les larves de premier stade, il s'agit maintenant d'identifier les facteurs permettant à l'espèce spécialiste de dominer la compétition larvaire avec son compétiteur généraliste. Nos principales hypothèses concernent (i) la taille des larves, qui peut directement influencer leur vitesse de déplacement et leur aptitude au combat, (ii) leur niveau d'agressivité et (iii) leur capacité à trouver l'hôte rapidement (même si ce dernier facteur ne jouait probablement qu'un rôle faible dans notre dispositif de très petite taille). De plus, la vitesse à laquelle se développent les larves des deux espèces pourrait influencer l'issue des interactions pour acquérir l'hôte. L'observation des larves de premier stade lorsqu'elles interagissent au sein d'un patch d'hôtes pourrait valider l'hypothèse que des interactions agressives ont également lieu à l'extérieur de l'hôte, mais elle représente un défi technique car les pupes sont enfouies et les larves *Aleochara* fuient la lumière. Par ailleurs, la capacité de dispersion des larves *Aleochara* de premier stade n'a pas vraiment été étudiée et seule la vitesse moyenne des larves de l'espèce spécialiste *A. bilineata* a été mesurée dans des observations de cinq minutes seulement (Boivin et Gauvin 2009). Or, les larves peuvent souvent encore parasiter un hôte 96 heures post-éclosion (Royer *et al.* 1999) : il semble donc important d'observer les larves sur un laps de temps plus long. A titre très préliminaire, nous avons enregistré les déplacements d'une vingtaine de larves de premier stade des deux espèces avec le logiciel de trajectométrie Ethovision pendant dix heures dans une arène carrée sans substrat, de 25 cm de côté. Ces premiers

résultats ne semblent pas montrer de différences entre les deux espèces mais indiquent qu'elles sont capables de parcourir plus de 50 mètres dans ces conditions. La distance de dispersion au sein d'un substrat et sur le terrain devrait être étudiée pour voir dans quel rayon d'action les larves sont capables de trouver un hôte. Par ailleurs, les capacités de détection des larves des deux espèces pourraient également présenter des différences notamment du fait que *A. bipustulata* peut chercher ses hôtes non seulement au pied de plantes mais aussi sur des cadavres ou des excréments. Ses larves peuvent donc utiliser une grande gamme d'indices tandis que *A. bilineata* cherche uniquement des hôtes se trouvant à proximité immédiate de brassicacées attaquées par le genre *Delia*. Les larves de ce spécialiste seront surement sensibles à des indices plus spécifiques mais qu'elles pourraient trouver plus efficacement que le généraliste. La difficulté technique serait ici de mettre au point un dispositif d'olfactométrie adapté à la petite taille des larves et surtout au fait qu'elles se déplacent au sein d'un substrat.

Dans ce travail, nous n'avons étudié qu'une partie du réseau trophique des deux espèces d'*Aleochara*, en nous concentrant sur *D. radicum* qui constitue tout de même certainement l'hôte commun le plus abondant pour les deux espèces. Toutefois, en Bretagne, trois autres espèces appartenant au genre *Delia* sont également connues et retrouvées dans les cultures (la mouche du navet, *D. floralis*, la mouche des semis, *D. platura*, et la mouche de l'oignon, *D. antiqua*). Concernant les Brassicacées, cette famille de plantes regroupe une grande diversité d'espèces auxquelles s'attaquent ces mouches. Une étude récente a porté sur deux espèces de plantes de cette famille (la moutarde noire et le chou) sur lesquelles les auteurs ont fait se développer des larves de deux espèces de papillons phytophages (*Pieris rapae* et *Pieris brassicae*) avant de mesurer l'issue de la compétition entre deux hyménoptères parasitoïdes (*Cotesia glomerata* et *Hyposoter ebeninus*) pour chaque modalité de larve/plante hôte. Les résultats montrent que si la plante hôte n'inverse pas l'issue de la compétition entre deux espèces de parasitoïdes, elle peut quand même modifier la proportion des individus de chaque espèce émergeant des hôtes (Poelman *et al.* 2014). Ainsi, notre réseau trophique de deux coléoptères parasitoïdes s'attaquant à quatre espèces de *Delia* qui elles mêmes utilisent une grande gamme de plantes cultivées (et sauvages) pourrait être un modèle original pour une étude du même type. Nos prédictions seraient alors que l'espèce généraliste serait mieux adaptée au compartiment cultivé (qui est fréquemment perturbé et présente une plus forte densité d'hôtes dans un environnement simplifié) alors que l'espèce spécialiste serait plus adaptée au compartiment sauvage (hôtes peu nombreux et dispersés au sein d'une matrice complexe). Les études menées en écologie comportementale sur chaque espèce de ce réseau trophique se sont pour l'instant concentrées sur le compartiment cultivé. Pourtant, il existe de nombreuses espèces de brassicacées sauvages qui ont probablement une importance dans la dynamique des populations

d'hôtes et qui pourraient également constituer autant de possibilités de niches ou de refuges pour deux espèces en compétition. Ainsi, l'importance du compartiment sauvage dans la niche écologique des deux espèces de staphylins reste à étudier. En particulier pour *A. bipustulata* qui semble désormais être un compétiteur plus faible lors des interactions directes avec *A. bilineata*, notamment au stade larvaire. La prévalence du généraliste *A. bipustulata* dans des patches d'hôtes où il peut trouver des hôtes que son compétiteur ne parasite pas (diptères nécrophages ou coprophages) devrait être mesurée afin d'estimer l'importance de cette partie de sa niche écologique dans la coexistence entre les deux espèces. Enfin, si les hôtes constituent des possibilités de partage des ressources, la dynamique des populations des deux compétiteurs peut également être influencée par des prédateurs communs. Une étude récente a par exemple révélé la présence d'ADN appartenant au genre *Aleochara* dans le contenu du tube digestif du carabe *Phylla obtusa* (Kamenova 2013). La compétition entre les deux *Aleochara* peut également être influencée par des interactions de type prédation intragilde, le cannibalisme des œufs ayant été montré précédemment chez *A. bilineata* (Lizé 2007). Ces deux espèces s'insèrent en effet au sein d'une gilde qui, même si elle est très restreinte, comprend également deux hyménoptères parasitoïdes (*Trybliographa rapae* et de façon plus anecdotique une espèce du genre *Phygadeon*) et de nombreux prédateurs de *D. radicum* tels que des carabes de tailles diverses (*Bembidion* sp. et *Amara* sp. par exemple) qui sont autant de prédateurs intragilde potentiels. Enfin, les conditions environnementales pourraient également influencer les performances et ainsi permettre la coexistence des deux espèces. La théorie prédit que les individus de l'espèce généraliste *A. bipustulata* pourraient supporter une gamme de conditions environnementales plus large que les individus de l'espèce spécialiste *A. bilineata*. Les éléments du paysage peuvent également influencer les interactions entre organismes. Dans ce contexte, le travail en écologie du paysage de Josso (2012) a permis de mettre en évidence des éléments paysagers pouvant influençant la dynamique des populations de nos deux espèces d'étude au sein des parcelles cultivées de brassicacées. Certains éléments ont un effet similaire, tels que la présence de fossés autour des parcelles qui limite leur colonisation par les deux staphylins. A l'inverse, certains semblent favoriser l'un ou l'autre compétiteur : par exemple, la présence de prés à proximité des parcelles favorise l'espèce spécialiste alors que l'espèce généraliste est plutôt favorisée par les haies (Josso *et al.* 2013)

Enfin, l'étude de leur microbiome constitue une source de perspectives très intéressantes dans l'étude des différences entre les deux compétiteurs, car il constitue une partie complètement inexplorée de leur niche écologique.

Nous avons montré que les communautés bactériennes des deux espèces de staphylins sont globalement différentes, même si elles sont plus proches entre elles qu'avec les autres membres du

réseau trophique étudiés ici (leur hôte commun *D. radicum* et l'hyménoptère parasitoïde *T. rapae*). Certains symbiotes identifiés sont très intéressants car nous pensons qu'ils pourraient avoir une importance dans la physiologie des insectes. Une bactérie du genre *Pseudomonas* (retrouvée ici chez *A. bilineata*) a été identifiée chez d'autres coléoptères staphylins du genre *Paederus*, où elle augmente la fitness des individus en produisant la pédérine, une molécule impliquée dans la défense chimique de l'insecte. Elle peut être acquise maternellement ou horizontalement via le cannibalisme (Kellner 2002). Les populations sauvages *A. bilineata* montrent des communautés bactériennes dominées par deux genres bactériens différents : *Stenotrophomonas* et *Bacillus*. Les deux bactéries sont décrites comme des pathogènes opportunistes mais une souche de *Stenotrophomonas* portée par le diptère *Stomoxys calcitrans* a révélé des propriétés antifongiques, notamment contre le champignon entomopathogène généraliste *Beauveria bassiana* (Stahly et al. 2006, Moraes et al. 2014). Par ailleurs, des bactéries acides acétiques (AAB) ont également été détectées dans notre étude (les genres *Asaia* pour l'hyménoptère *T. rapae* et *Gluconacetobacter* pour l'hôte *D. radicum*). Le rôle de ces bactéries, retrouvées dans le tube digestif de nombreuses espèces d'insectes dont la nourriture est à base de sucre, n'est pas encore bien défini mais *Asaia* a montré une capacité à envahir les ovaires chez une espèce de moustique permettant sa transmission verticale (Favia et al. 2007). De façon générale, il semblerait que ce groupe de bactéries soit impliqué dans des relations spécifiques avec leur hôte et devrait être étudié (Crotti et al. 2010, Chouaia et al. 2014). Enfin, l'étude des communautés bactériennes au sein du réseau trophique a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs bactéries à transmission verticale. Ces trois bactéries : *Wolbachia*, *Rickettsia* et *Spiroplasma* sont connues pour être des manipulateurs sexuels. Si aucun impact sur le sex-ratio n'a été observé dans notre étude, ces bactéries pourraient néanmoins avoir des impacts variés sur la fitness de leur hôte. Une étude récente montre par exemple que de nombreuses souches de *Wolbachia* procurent à leur hôte des niveaux de résistance variés face à des virus (Martinez et al. 2014). Les perspectives concernant l'étude de ces bactéries transmises verticalement seraient d'une part d'étudier le taux de transmission maternelle des symbiotes et d'autre part d'étudier l'effet de ces bactéries sur les traits d'histoire de vie et la fitness des individus. Le taux de transmission maternelle nous renseignerait sur la stabilité de l'association, qui traduit les possibilités de coévolution avec l'hôte. Cette étude pourrait également permettre de mesurer la proportion des individus infectés par plusieurs partenaires. Pour étudier leur impact il faut obtenir de la manière la moins invasive possible des individus portant différentes modalités d'infection pour chaque bactérie : non infectés, infectés par une bactérie ou infectés par plusieurs bactéries. Toutes ces bactéries sont partagées par deux espèces ou plus au sein du réseau trophique que nous avons étudié. Si les différences phylogénétiques du gène 16S étudié des souches de *Rickettsia* présentes chez *A. bilineata* et *T. rapae* semblent exclure un transfert horizontal entre les deux espèces, pour

Spiroplasma et *Wolbachia*, une étude multigénique des souches portées par les deux espèces de staphylins et leur hôte permettrait de valider ou non l'hypothèse d'un transfert horizontal dans ce réseau trophique. Enfin, nous avons travaillé sur les communautés bactériennes des individus adultes. Toutefois, chez ces espèces holométaboles, ces communautés peuvent parfois être grandement modifiées lors de la nymphose. Cette étude doit donc être complétée par une étude des stades larvaires de chacun des insectes qui pourrait mettre en évidence d'autres genres bactériens impliqués cette fois dans la physiologie des différentes espèces pendant leur vie larvaire.

L'ensemble de ces perspectives permettrait de dresser un tableau plus complet de la niche écologique des deux espèces et de mieux comprendre comment elles arrivent à coexister dans le milieu naturel de manière stable. Enfin, la mouche du chou étant un ravageur agricole majeur, ces études pourraient permettre une meilleure gestion des populations de ses ennemis naturels dans une optique de lutte biologique par conservation.

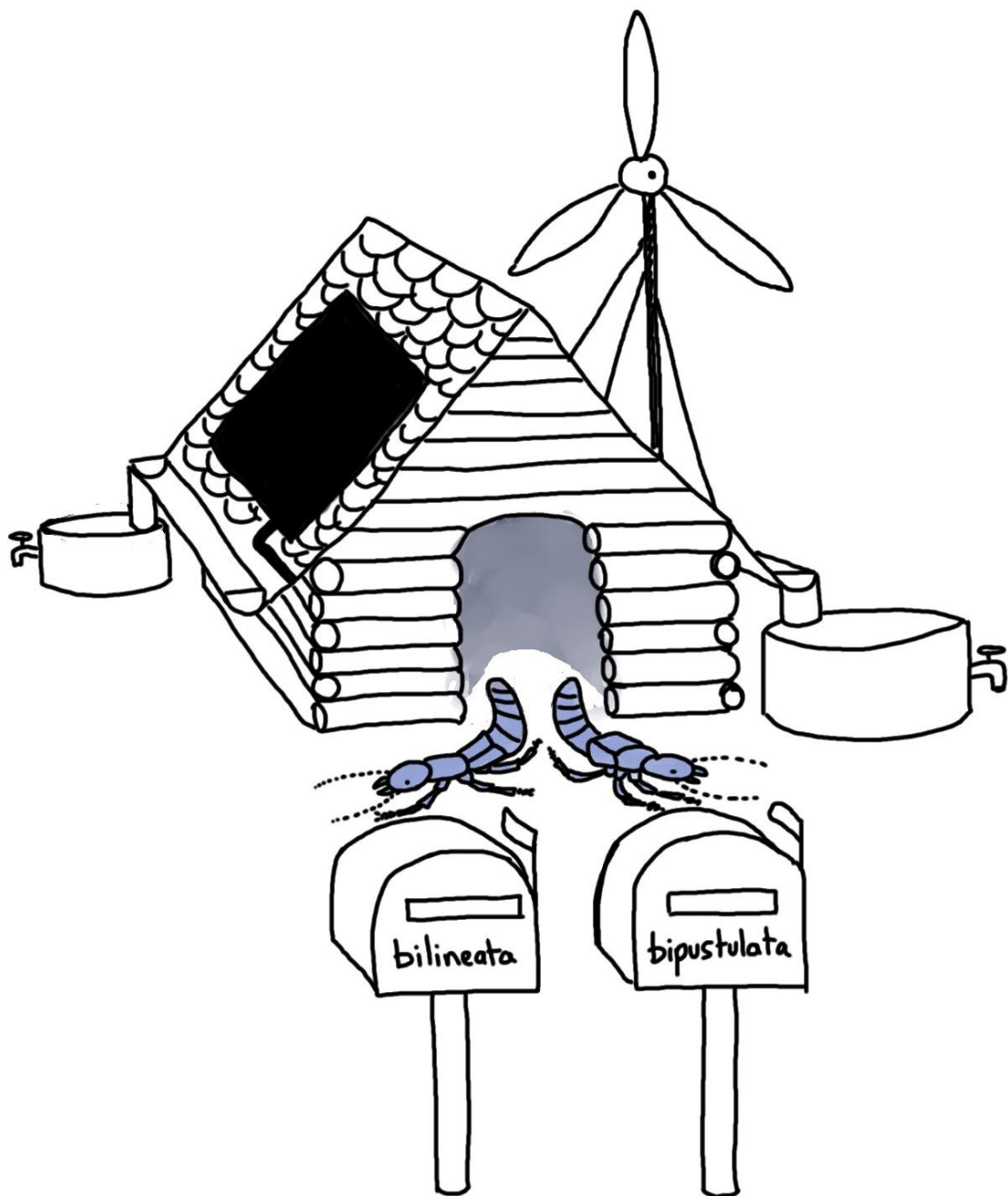


Figure 1 : Partage d'une niche écologique : vision idéalisée (illustration D. Poinso)

Références bibliographiques

hors manuscrits

- Ackerly DD (2003).** Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *International Journal of Plant Sciences*, 164(S3), S165-S184.
- Adler PB, HilleRisLambers J, Levine JM (2007).** A niche for neutrality. *Ecology letters*, 10(2), 95-104.
- Agboka K, Schulthess F, Chabi-Olaye A, Labo I, Gounou S, Smith H (2002).** Self-, intra-, and interspecific host discrimination in *Telenomus busseolae* Gahan and *T. isis* Polaszek (Hymenoptera: Scelionidae), sympatric egg parasitoids of the African cereal stem borer *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Behavior*, 15(1), 1-12.
- Aksoy S (1995).** *Wigglesworthia* gen. nov. and *Wigglesworthia glossinidia* sp. nov., taxa consisting of the mycetocyte-associated, primary endosymbionts of tsetse flies. *International journal of systematic bacteriology*, 45(4), 848-851.
- Ahlstrom-Olsson M (1994).** Host preference of *Aleochara bilineata* and *A. bipustulata* (Coleoptera: Staphylinidae) in relation to host size and host fly species (Diptera: Anthomyiidae): A laboratory study. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*, Suppl. 16, 283-291.
- Amarasekare, P. (2003).** Competitive coexistence in spatially structured environments: a synthesis. *Ecology Letters*, 6(12), 1109-1122.
- Andersson M & Iwasa Y (1996).** Sexual selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(2), 53-58.
- 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. *Applied entomology and zoology*, 22(4), 644-645.
- Archer J & Thanzami V (2007).** The relation between physical aggression, size and strength, among a sample of young Indian men. *Personality and Individual Differences*, 43(3), 627-633.
- Ardeh MJ, de Jong PW, van Lenteren JC. (2005).** Intra-and interspecific host discrimination in arrhenotokous and thelytokous *Eretmocerus* spp. *Biological Control*, 33(1), 74-80.
- Bakker KJJM, Van Alphen JJM, Van Batenburg FHD, Van der Hoeven N, Nell HW, Van Strien-Van Liempt WTFH, Turlings TCJ (1985).** The function of host discrimination and superparasitization in parasitoids. *Oecologia*, 67(4), 572-576.
- Basset Y, Cizek L, Cuénoud P, Didham RK, Guilhaumon F, Missa O, ... , Leponce M (2012).** Arthropod diversity in a tropical forest. *Science*, 338(6113), 1481-1484.

- Baumann P (2005).** Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. *Annual Review of Microbiology*, 59, 155-189.
- Bell G (2000).** The distribution of abundance in neutral communities. *The American Naturalist*, 155(5), 606-617.
- Bell G (2001).** Neutral macroecology. *Science*, 293(5539), 2413-2418.
- Bennett DC, Tun HM, Kim JE, Leung FC, Cheng KM (2013).** Characterization of cecal microbiota of the emu (*Dromaius novaehollandiae*). *Veterinary microbiology*, 166(1), 304-310.
- Berger KM, & Gese EM (2007).** Does interference competition with wolves limit the distribution and abundance of coyotes?. *Journal of Animal Ecology*, 76(6), 1075-1085.
- Bian G, Joshi D, Dong Y, Lu P, Zhou G, Pan X, ..., Xi Z (2013).** *Wolbachia* invades *Anopheles stephensi* populations and induces refractoriness to Plasmodium infection. *Science*, 340(6133), 748-751.
- Birch LC (1957).** The meanings of competition. *The American Naturalist*, 5-18.
- Biron DG, Landry BS, Nénon JP, Coderre D, Boivin G (2000).** Geographical origin of an introduced pest species, *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae), determined by RAPD analysis and egg micromorphology. *Bulletin of entomological research*, 90(01), 23-32.
- Boivin G & Gauvin MJ (2009).** Egg size affects larval performance in a coleopteran parasitoid. *Ecological Entomology*, 34(2), 240-245.
- Bolnick DI, Amarasekare P, Araújo MS, Bürger R, Levine JM, Novak M et al. (2011).** Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in ecology & evolution*, 26(4), 183-192.
- Bonsall MB & Hassell MP (1999).** Parasitoid-mediated effects: apparent competition and the persistence of host–parasitoid assemblages. *Researches on Population Ecology*, 41(1), 59-68.
- Bosé M & Sarrazin F (2007).** Competitive behaviour and feeding rate in a reintroduced population of Griffon Vultures *Gyps fulvus*. *Ibis*, 149(3), 490-501.
- Bouchon D, Rigaud T, Juchault P (1998).** Evidence for widespread *Wolbachia* infection in isopod crustaceans: molecular identification and host feminization. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265(1401), 1081-1090.

- Branca A, Le Ru BP, Vavre F, Silvain JF, Dupas S (2011).** Intraspecific specialization of the generalist parasitoid *Cotesia sesamiae* revealed by polyDNAvirus polymorphism and associated with different *Wolbachia* infection. *Molecular ecology*, 20(5), 959-971.
- Brelsfoard CL & Dobson SL (2011).** *Wolbachia* effects on host fitness and the influence of male aging on cytoplasmic incompatibility in *Aedes polynesiensis* (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 48(5), 1008-1015.
- Bromand B (1980).** Investigations on the biological control of the cabbage rootfly (*Hylemya brassicae*) with *Aleochara bilineata*. *Bulletin SROP*, 3, 49-62.
- Brown WL&Wilson EO (1956)** Character displacement. *Systematic Zoology*, 5(2), 49-64.
- Brown WD, Smith AT, Moskalik B, Gabriel J (2006).** Aggressive contests in house crickets: size, motivation and the information content of aggressive songs. *Animal Behaviour*, 72(1), 225-233.
- Brown WD, Chimenti AJ, Siebert JR (2007).** The payoff of fighting in house crickets: motivational asymmetry increases male aggression and mating success. *Ethology*, 113(5), 457-465.
- Carpenter CR (1942).** Sexual behavior of free ranging rhesus monkeys *Macaca mulatta*. I. Specimens, procedures and behavioral characteristics of estrus. *Journal of Comparative Psychology*, 33(1), 113.
- Chancellor RL& Isbell LA (2008).** Punishment and competition over food in captive rhesus macaques, *Macaca mulatta*. *Animal Behaviour*, 75(6), 1939-1947.
- Chandler JA, Lang JM, Bhatnagar S, Eisen JA, Kopp A (2011).** Bacterial communities of diverse *Drosophila* species: ecological context of a host-microbe model system. *PLoS genetics*, 7(9), e1002272.
- Charnov EL (1976).** Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical population biology*, 9(2), 129-136.
- Charnov EL & Skinner SW (1984).** Evolution of host selection and clutch size in parasitoid wasps. *Florida Entomologist*, 5-21.
- Chase JM & Leibold MA (2003).** *Ecological niches: linking classical and contemporary approaches*. University of Chicago Press.
- Chase JM (2005).** Towards a really unified theory for metacommunities. *Functional Ecology*, 19(1), 182-186.

- Chase JM& Myers JA (2011).** Disentangling the importance of ecological niches from stochastic processes across scales. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1576), 2351-2363.
- Chave, J. (2004).** Neutral theory and community ecology. *Ecology letters*, 7(3), 241-253.
- Chesson P (2000).** Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual review of Ecology and Systematics*, 343-366.
- Chouaia B, Gaiarsa S, Crotti E, Comandatore F, Degli Esposti M, Ricci I, ... , Daffonchio D (2014).** Acetic acid bacteria genomes reveal functional traits for adaptation to life in insect guts. *Genome biology and evolution*, 6(4), 912-920.
- Chow FJ& Mackauer M (1984).** Inter-and intraspecific larval competition in *Aphidius smithi* and *Praon pequodorum* (Hymenoptera: Aphidiidae). *The Canadian Entomologist*, 116(08), 1097-1107.
- Clark DA & Clark DB (1984).** Spacing dynamics of a tropical rain forest tree: evaluation of the Janzen-Connell model. *The American Naturalist*, 769-788.
- Clement FE, Weaver JE, Hanson HC (1929).** Plant Competition. *Carnegie Institution of Washington publication*, 398.
- Coaker TH & Finch S (1969).** A method for the continuous rearing of the cabbage root fly *Erioischia brassicae* (Bch.) and some observations on its biology. *Bulletin of Entomological Research*, 58(03), 619-627.
- Coaker TH& Finch S (1971).** The cabbage root fly, *Erioischia brassicae* (Bouché). *Report of the National Vegetable Research Station for 1970*, 23-42.
- Colhoun J (1953)** Observations on the incidence of club root disease of *Brassicae* in limed soils in relation to temperature. *Annals of Applied Biology* 40(4), 639-644.
- Collier TR, Hunter MS, Kelly SE (2007).** Heterospecific ovicide influences the outcome of competition between two endoparasitoids, *Encarsia formosa* and *Encarsia luteola*. *Ecological Entomology*, 32(1), 70-75.
- Colman DR, Toolson EC, Takacs-Vesbach CD (2012).** Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities?. *Molecular Ecology*, 21(20), 5124-5137.
- Connell JH (1961).** Effects of competition, predation by *Thais lapillus*, and other factors on natural populations of the barnacle *Balanus balanoides*. *Ecological Monographs*, 31(1), 61-104.

- Connell JH (1980).** Diversity and the coevolution of competitors, or the ghost of competition past. *Oikos*, 131-138.
- Corby-Harris V, Pontaroli AC, Shimkets LJ, Bennetzen JL, Habel KE, Promislow DE (2007).** Geographical distribution and diversity of bacteria associated with natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Applied and environmental microbiology*, 73(11), 3470-3479.
- Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R (2009).** Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science*, 326(5960), 1694-1697.
- Costello EK, Gordon JI, Secor SM, Knight R (2010).** Postprandial remodeling of the gut microbiota in Burmese pythons. *The ISME journal*, 4(11), 1375-1385.
- Crombie AC (1946).** Further experiments on insect competition. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences*, 133(870), 76-109.
- Crotti E, Rizzi A, Chouaia B, Ricci I, Favia G, Alma A, ..., Daffonchio D (2010).** Acetic acid bacteria, newly emerging symbionts of insects. *Applied and environmental microbiology*, 76(21), 6963-6970.
- Cruz YP (1981).** A sterile defender morph in a polyembryonic hymenopterous parasite. *Nature* 294, 446 - 447
- Cruz YP (1986).** Development of the polyembryonic parasite *Copidosomopsis tanytmemus* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 79(1), 121-127.
- Darwin C(1859).** *On the origin of the species by natural selection*. London: Murray.
- Davies NB, Krebs JR, West SA (1981).** *An introduction to behavioural ecology*. Blackwell, Oxford.
- Dawkins R(1982).** *The extended phenotype*. Oxford University Press, Oxford.
- Dayan T& Simberloff D (2005)** Ecological and community-wide character displacement: the next generation. *Ecology Letters*, 8(8), 875-894.
- De Bary HA (1879).** «*De la symbiose*», *Revue internationale des sciences*, III, p. 301.
- Degen T & Städler E (1996).** Influence of natural leaf shapes on oviposition in three phytophagous flies: a comparative study. In *Proceedings of the 9th International Symposium on Insect-Plant Relationships* (pp. 97-100). Springer Netherlands.

- De Moraes CM, Cortesero AM, Stapel JO, Lewis WJ (1999).** Intrinsic and extrinsic competitive interactions between two larval parasitoids of *Heliothis virescens*. *Ecological Entomology*, 24(4), 402-410.
- DeMott WR (1989).** The role of competition in zooplankton succession. In *Plankton Ecology* (pp. 195-252). Springer Berlin Heidelberg.
- Devictor V, Clavel J, Julliard R, Lavergne S, Mouillot D, Thuiller W, ..., Mouquet N (2010).** Defining and measuring ecological specialization. *Journal of Applied Ecology*, 47(1), 15-25.
- De Wilde J (1947).** De koolvlieg en zijn bestrijding. *Mededelingen van de Tuinbouwvoorlichtingsdienst*, 45: 7-11; 28-33.
- Dissanayake A, Galloway TS, Jones MB (2009).** Physiological condition and intraspecific agonistic behaviour in *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 375(1), 57-63.
- Douglas AE (1998).** Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria Buchnera. *Annual review of entomology*, 43(1), 17-37.
- Eggleton P & Gaston KJ (1990).** "Parasitoid" Species and Assemblages: Convenient Definitions or Misleading Compromises?. *Oikos*, 417-421.
- Eggleton P & Belshaw R (1992).** Insect parasitoids: an evolutionary overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 337(1279), 1-20.
- Elzinga JA, Zwakhals K, Harvey JA, Biere A (2007).** The parasitoid complex associated with the herbivore *Hadena bicruris* (Lepidoptera: Noctuidae) on *Silene latifolia* (Caryophyllaceae) in the Netherlands. *Journal of Natural History*, 41(1-4), 101-123.
- Embley TM & Martin W (2006).** Eukaryotic evolution, changes and challenges. *Nature*, 440(7084), 623-630.
- Emlen ST & Oring LW (1977).** Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science*, 197(4300), 215-223.
- Enquist M & Leimar O (1987).** Evolution of fighting behaviour: the effect of variation in resource value. *Journal of theoretical Biology*, 127(2), 187-205.

- Favia G, Ricci I, Damiani C, et al. (2007)** Bacteria of the genus *Asaia* stably associate with *Anopheles stephensi*, an Asian malarial mosquito vector. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 9047–9051.
- Feener DH & Brown BV (1997)** *Diptera* as parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 42(1), 73-97.
- Ferrari J, Darby AC, Daniell TJ, Godfray HCJ, Douglas AE (2004)**. Linking the bacterial community in pea aphids with host-plant use and natural enemy resistance. *Ecological Entomology*, 29(1), 60-65.
- Ferry A, Dugravot S, Delattre T, Christides JP, Auger J, Bagnères AG, ..., Cortesero AM (2007)**. Identification of a widespread monomolecular odor differentially attractive to several *Delia radicum* ground-dwelling predators in the field. *Journal of chemical ecology*, 33(11), 2064-2077.
- Field SA, Calbert G, Keller MA (1998)**. Patch defence in the parasitoid wasp *Trissolcus basalus* (Insecta: Scelionidae): the time structure of pairwise contests, and the 'waiting game'. *Ethology*, 104(10), 821-840.
- Finch S (1989)**. Ecological considerations in the management of *Delia* pest species in vegetable crops. *Annual review of entomology*, 34(1), 117-137.
- Fisher RC (1961)**. A study in insect multiparasitism II. The mechanism and control of competition for possession of the host. *Journal of Experimental Biology*, 38(3), 605-629.
- Fleury F, Vavre F, Ris N, Fouillet P, Bouletreau M (2000)**. Physiological cost induced by the maternally-transmitted endosymbiont *Wolbachia* in the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina heterotoma*. *Parasitology*, 121(05), 493-500.
- Force DC (1972)**. R- and K-strategists in endemic host-parasitoid communities. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 18:135–37
- Force DC (1974)**. Ecology of insect host-parasitoid communities. *Science*, 184(4137), 624-632.
- Fournet S, Renoult L, Nenon JP, Brunel E (1999)** Super- et multiparasitisme chez les *Aleochara* (Coleoptera: Staphylinidae) inféodés à la mouche du chou *Delia radicum* L. (Diptera: Anthomyiidae). *Annales de la Société Entomologique de France* (Vol. 35, pp. 384-389). Société entomologique de France.
- Fournet S (2000)**. *Ecologie comportementale des adultes et des larves de deux coléoptères staphylinidae, parasitoïdes de la mouche du chou* (Doctoral dissertation, Université de Rennes).

- Fournet S, Stapel JO, Kacem N, Nenon JP, Brunel E (2000)** Life history comparison between two competitive *Aleochara* species in the cabbage root fly, *Delia radicum*: implications for their use in biological control. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(3), 205-211.
- Fournet S, Poinot D, Brunel E, Nénon JP, Cortesero AM (2001)**. Do female coleopteran parasitoids enhance their reproductive success by selecting high-quality oviposition sites? *Journal of animal ecology*, 70(6), 1046-1052.
- Frantz A, Calcagno V, Mieuzet L, Plantegenest M, Simon JC (2009)**. Complex trait differentiation between host-populations of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Harris): implications for the evolution of ecological specialisation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97(4), 718-727.
- Fridley JD & Grime JP (2010)**. Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology*, 91(8), 2272-2283.
- Fukatsu T (2012)**. Next-generation sequencing sheds light on intricate regulation of insect gut microbiota. *Molecular ecology*, 21(24), 5908-5910.
- Fuldner D (1960)** Beitrage zur Morphologie und Biologie von *Aleochara bilineata* Gyll. und *A. bipustulata* L. (Coleoptera: Staphylinidae). *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*, 49: 312–386.
- Futuyma DJ (2001)**. Ecological specialization and generalization. *Evolutionary Ecology: Concepts and Case Studies* (eds C.W. Fox, D.A. Roff & D.J. Fairbairn), pp.177–192, Oxford University Press, New York
- Gause GF (1934)**. *The struggle for existence*. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Gewin V (2006)**. Beyond neutrality—ecology finds its niche. *PLoS Biology*, 4(8), e278.
- Gilbert LE (1976)**. Postmating female odor in *Heliconius* butterflies: a male-contributed antiaphrodisiac? *Science*, 193(4251), 419-420.
- Gilbert JJ (1985)**. Competition between rotifers and *Daphnia*. *Ecology*, 1943-1950.
- Godfray HCJ (1994)** Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press.
- Goubault M, Plantegenest M, Poinot D, Cortesero AM (2003)**. Effect of expected offspring survival probability on host selection in a solitary parasitoid. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 109(2), 123-131.

- Goubault M, Outreman Y, Poinso D, Cortesero AM (2005).** Patch exploitation strategies of parasitic wasps under intraspecific competition. *Behavioral Ecology*, 16(4), 693-701.
- Goubault M, Batchelor TP, Linforth RS, Taylor AJ, Hardy IC (2006).** Volatile emission by contest losers revealed by real-time chemical analysis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1603), 2853-2859.
- Goubault M, Scott D, Hardy IC (2007a).** The importance of offspring value: maternal defence in parasitoid contests. *Animal Behaviour*, 74(3), 437-446.
- Goubault M, Mack AF, Hardy IC (2007b).** Encountering competitors reduces clutch size and increases offspring size in a parasitoid with female–female fighting. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1625), 2571-2577.
- Goubert C, Josso C, Louapre P, Cortesero AM, Poinso D (2013).** Short-and long-range cues used by ground-dwelling parasitoids to find their host. *Naturwissenschaften*, 100(2), 177-184.
- Gould SJ & Eldredge N (2000).** Punctuated equilibrium comes of age. *Shaking the Tree: Readings from Nature in the History of Life*, 17.
- Gould SB, Waller RF, McFadden GI (2008).** Plastid evolution. *Plant Biology*, 59(1), 491.
- Grbić M, Nagy LM, Strand M (1996).** Pattern duplications in larvae of the polyembryonic wasp *Copidosoma floridanum*. *Development genes and evolution*, 206(4), 281-287.
- Grbić M, Nagy LM, Strand MR (1998).** Development of polyembryonic insects: a major departure from typical insect embryogenesis. *Development genes and evolution*, 208(2), 69-81.
- Gros O, Darrasse A, Durand P, Frenkiel L, Moueza M (1996).** Environmental transmission of a sulfur-oxidizing bacterial gill endosymbiont in the tropical lucinid bivalve *Codakia orbicularis*. *Applied and environmental microbiology*, 62(7), 2324-2330.
- Hammond DS, Brown VK, Newbery DM, Prins HHT, Brown ND (1998).** Disturbance, phenology and life-history characteristics: factors influencing distance/density-dependent attack on tropical seeds and seedlings. In *Dynamics of tropical communities: the 37th symposium of the British Ecological Society, Cambridge University, 1996*. (pp. 51-78). Blackwell Science Ltd.
- Hardy IC & Blackburn TM (1991).** Brood guarding in a bethylid wasp. *Ecological entomology*, 16(1), 55-62.

- Harvey JA, Gols R, Strand MR (2009).** Intrinsic competition and its effects on the survival and development of three species of endoparasitoid wasps. *Entomologia experimentalis et applicata*, 130(3), 238-248.
- Harvey JA, Gumovsky A, Gols R (2012).** Effect of host-cocoon mass on adult size in the secondary hyperparasitoid wasp, *Pteromalus semotus* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Insect Science*, 19(3), 383-390.
- Harvey JA, Poelman EH, Tanaka T (2013).** Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual review of entomology*, 58, 333-351.
- Haynes S, Darby AC, Daniell TJ, Webster G, Van Veen FJF, GodfrayHCJ, ..., Douglas AE (2003).** Diversity of bacteria associated with natural aphid populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7216-7223.
- Herbert EE & Goodrich-Blair H (2007).** Friend and foe: the two faces of *Xenorhabdus nematophila*. *Nature Reviews Microbiology*, 5(8), 634-646.
- Hickman CS (2005).** How have bacteria contributed to the evolution of multicellular animals?. *The influence of cooperative bacteria on animal host biology*, 3-33.
- Hirsch J, Strohmeier S, Pfannkuchen M, Reineke A (2012).** Assessment of bacterial endosymbiont diversity in *Otiorhynchus* spp.(Coleoptera: Curculionidae) larvae using a multitag 454 pyrosequencing approach. *BMC microbiology*, 12(Suppl 1), S6.
- Holt RD (1977).** Predation, apparent competition, and the structure of prey communities. *Theoretical population biology*, 12(2), 197-229.
- Hongoh Y, Ohkuma M, Kudo T (2003).** Molecular analysis of bacterial microbiota in the gut of the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera; Rhinotermitidae). *FEMS microbiology ecology*, 44(2), 231-242.
- Hongoh Y, Deevong P, Inoue T, Moriya S, Trakulnaleamsai S, Ohkuma M, ..., Kudo T (2005).** Intra- and interspecific comparisons of bacterial diversity and community structure support coevolution of gut microbiota and termite host. *Applied and environmental microbiology*, 71(11), 6590-6599.
- Hubbell SP (2001).** *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography (MPB-32)* (Vol. 32). Princeton University Press.

- Hubbell SP (2005).** Neutral theory in community ecology and the hypothesis of functional equivalence. *Functional ecology*, 19(1), 166-172.
- Hubbell SP (2006).** Neutral theory and the evolution of ecological equivalence. *Ecology*, 87(6), 1387-1398.
- Huisman J & Weissing FJ (1999).** Biodiversity of plankton by species oscillations and chaos. *Nature*, 402(6760), 407-410.
- Humphries EL, Hebblethwaite AJ, Batchelor TP, Hardy IC (2006).** The importance of valuing resources: host weight and contender age as determinants of parasitoid wasp contest outcomes. *Animal Behaviour*, 72(4), 891-898.
- Hurst GD, Jiggins FM, von der Schulenburg JHG, Bertrand D, West SA, Goriacheva II, ..., Majerus ME (1999).** Male-killing *Wolbachia* in two species of insect. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 266(1420), 735-740.
- Hutchinson GE (1957).** Concluding remarks. In *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* (Vol. 22, pp. 415-427). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Hutchinson GE (1961).** The paradox of the plankton. *The American Naturalist*, 137-145.
- Huth A & Dettner K (1990).** Defense chemicals from abdominal glands of 13 rove beetle species of subtribe *Staphylinina* (Coleoptera: Staphylinidae, Staphylininae). *Journal of chemical ecology*, 16(9), 2691-2711.
- Imura D, Toquenaga Y & Fujii K (2003).** Genetic variation can promote system persistence in an experimental host-parasitoid system. *Population ecology*, 45(3), 205-212.
- Iwao K & Ohsaki N (1996).** Inter- and intraspecific interactions among larvae of specialist and generalist parasitoids. *Researches on population ecology*, 38(2), 265-273.
- Jervis MA, Heimpel GE, Ferns PN, Harvey JA, Kidd NA (2001).** Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. *Journal of Animal Ecology*, 70(3), 442-458.
- Jervis MA, Moe A, Heimpel GE (2012).** The evolution of parasitoid fecundity: a paradigm under scrutiny. *Ecology letters*, 15(4), 357-364.
- Ji D & Kim Y (2004).** An entomopathogenic bacterium, *Xenorhabdus nematophila*, inhibits the expression of an antibacterial peptide, cecropin, of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Journal of insect physiology*, 50(6), 489-496.

Jiggins FM (2002). Widespread 'hilltopping' in *Acraea* butterflies and the origin of sex-role-reversed swarming in *Acraea encedon* and *A. encedana*. *African Journal of Ecology*, 40(3), 228-231.

Johannsen W (1909). *Elemente der exakten Erblchkeitslehre* (pp. 334-334). Jena: Gustav Fischer.

Jonasson T (1994). Parasitoids of *Delia* root flies in brassica vegetable crops: coexistence and niche separation in two *Aleochara species* (Coleoptera: Staphylinidae). *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*, (SUPP16), 379-386.

Jones RT, Sanchez LG, Fierer N (2013). A cross-taxon analysis of insect-associated bacterial diversity. *PloS one*, 8(4), e61218.

Josso C, Le Ralec A, Raymond L, Saulais J, Baudry J, Poinso D, Cortesero AM (2013). Effects of field and landscape variables on crop colonization and biological control of the cabbage root fly *Delia radicum*. *Landscape ecology*, 28(9), 1697-1715.

Josso C (2012). *Écologie des interactions entre la mouche du chou Delia radicum et ses ennemis naturels: de la parcelle au paysage* (Doctoral dissertation, Rennes 1).

Kaltenpoth M, Winter SA, Kleinhammer A (2009). Localization and transmission route of *Coriobacterium glomerans*, the endosymbiont of pyrrhocorid bugs. *FEMS microbiology ecology*, 69(3), 373-383.

Kamenova S. (2013) *Réseaux d'interactions, biodiversité et services écosystémiques en milieu agricole: que nous apprennent les coléoptères carabiques?* (Doctoral dissertation, Université de Poitiers, France)

Keddy PA (1989). *Competition*. Chapman and Hall, London.

Keeling PJ (2004). Diversity and evolutionary history of plastids and their hosts. *American Journal of Botany*, 91(10), 1481-1493.

Kellner RL (2002). Molecular identification of an endosymbiotic bacterium associated with pederin biosynthesis in *Paederus sabaeus* (Coleoptera: Staphylinidae). *Insect biochemistry and molecular biology*, 32(4), 389-395.

Kikuchi Y (2009). Endosymbiotic bacteria in insects: their diversity and culturability. *Microbes and Environments*, 24(3), 195-204.

- Klimaszewski J (1984).** A revision of the genus *Aleochara* Gravenhorst of America north of Mexico (Coleoptera: Staphylinidae, Aleocharinae). *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 116(S129), 3-211.
- Kostal V & Finch S (1994).** Influence of background on host-plant selection and subsequent oviposition by the cabbage root fly (*Delia radicum*). *Entomologia experimentalis et applicata*, 70(2), 153-163.
- Krebs JR & Davies NB (1981)** *An introduction to Behavioral Ecology*. Oxford: Blackwell.
- Langlet X (1997).** *Les Aleochara (Coleoptera; Staphylinidae), associés à Delia radicum L. (Diptera; Anthomyiidae): Caractérisation des espèces, biologie et prédation d'Aleochara bilineata Gyll* (Doctoral dissertation, Université de Rennes, France).
- Langlet X, Boivin G, Brunel E, Nénon JP (1998).** Variation in weight of *Aleochara bilineata* (Coleoptera: Staphylinidae) in relation to host size and reproduction. *The Canadian Entomologist*, 130(03), 257-265.
- Laing JE & Corrigan JE (1987).** Intrinsic competition between the gregarious parasite, *Cotesia glomeratus* and the solitary parasite, *Cotesia rubecula* [Hymenoptera: Braconidae] for their host. *Artogeia rapae* [Lepidoptera: Pieridae]. *Entomophaga*, 32(5), 493-501.
- Le Lann C, Outreman Y, Van Alphen JJ, Krespi L, Pierre JS, Van Baaren J (2008).** Do past experience and competitive ability influence foraging strategies of parasitoids under interspecific competition?. *Ecological Entomology*, 33(6), 691-700.
- Le Lann C, Outreman Y, Van AlphenJJM, Van Baaren J (2011).** First in, last out: asymmetric competition influences patch exploitation of a parasitoid. *Behavioral Ecology*, 22(1), 101-107.
- Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, ... , Gordon JI (2008).** Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*, 320(5883), 1647-1651.
- Lichstein JW, Dushoff J, Levin SA & Pacala SW (2007).** Intraspecific variation and species coexistence. *The American Naturalist*, 170(6), 807-818.
- Lizé A (2007).** *Reconnaissance de parentèle chez Aleochara bilineata (Coleoptera: Staphylinidae): mécanismes proximaux et optimalité évolutive* (Doctoral dissertation, Université de Rennes, France).
- Lizé A, Cortesero AM, Bagnères AG, Poinot D (2010).** Kin recognition in the larvae of a solitary insect: the cue is in the plug. *Behavioral Ecology*, 21(3), 633-638.

- Lizé A, Khidr SK, Hardy IC (2012).** Two components of kin recognition influence parasitoid aggression in resource competition. *Animal Behaviour*, 83(3), 793-799.
- Lizé A, McKay R, Lewis Z (2013).** Gut microbiota and kin recognition. *Trends in ecology & evolution*, 28(6), 325-326.
- Losey JE, Harmon J, Ballantyne F, Brown C (1997).** A polymorphism maintained by opposite patterns of parasitism and predation. *Nature*, 388(6639), 269-272.
- Lucas É, Coderre D, Brodeur J (1998).** Intraguild predation among aphid predators: characterization and influence of extraguild prey density. *Ecology*, 79(3), 1084-1092.
- MacArthur RH & Pianka ER (1966).** On optimal use of a patchy environment. *American Naturalist*, 603-609.
- MacArthur RH (1972)** *Geographical ecology: patterns in the distribution of species*. NY: Harper and Rowe.
- McBrien H & Mackauer M (1990).** Heterospecific larval competition and host discrimination in two species of aphid parasitoids: *Aphidius ervi* and *Aphidius smithi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 56(2), 145-153.
- Mack RN & Harper JL (1977).** Interference in dune annuals: spatial pattern and neighbourhood effects. *The Journal of Ecology*, 345-363.
- Mackauer M (1990).** Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. *Critical issues in biological control/edited by Manfred Mackauer and Lester E. Ehler, Jens Roland*.
- Mackauer M & Chau A (2001).** Adaptive self superparasitism in a solitary parasitoid wasp: the influence of clutch size on offspring size. *Functional Ecology*, 15(3), 335-343.
- Margulis L (1996).** Archaeal-eubacterial mergers in the origin of *Eukarya*: phylogenetic classification of life. *Proceedings of the national academy of sciences*, 93(3), 1071-1076.
- Martinez J, Longdon B, Bauer S, Chan YS, Miller WJ, Bourtzis K, ..., Jiggins FM (2014).** Symbionts Commonly Provide Broad Spectrum Resistance to Viruses in Insects: A Comparative Analysis of *Wolbachia* Strains. *PLoS pathogens*, 10(9), e1004369.
- Maus CH, Mittmann B, Peschke K (1998).** Host records of parasitoid *Aleochara* Gravenhorst species (Coleoptera, Staphylinidae) attacking puparia of cyclorrhaphous Diptera. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 45(2), 231-254.

- Maynard Smith J (1974).** The theory of games and the evolution of animal conflicts. *Journal of theoretical biology*, 47(1), 209-221.
- Merkle JA, Stahler DR, Smith DW (2009).** Interference competition between gray wolves and coyotes in Yellowstone National Park. *Canadian Journal of Zoology*, 87(1), 56-63.
- Meszéna G, Gyllenberg M, Pásztor L, Metz JA (2006).** Competitive exclusion and limiting similarity: a unified theory. *Theoretical Population Biology*, 69(1), 68-87.
- MinKT& BenzerS (1997).** *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 94, 10792–10796.
- Missonnier J (1963).** *Etude écologique du développement nymphal de deux diptères muscides phytophages: Pegomya betae Curtis et Chortophila brassicae Bouche* (Doctoral dissertation, Sc. Nat., Paris).
- Mohamad R, Monge JP, Goubault M (2011).** Agonistic interactions and their implications for parasitoid species coexistence. *Behavioral Ecology*, arr098.
- Mohamad R, Monge JP, Goubault M (2012).** Wait or fight? Ownership asymmetry affects contest behaviors in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology*, ars125.
- Moll RM, Romoser WS, Modrakowski MC, Moncayo AC, Lerdthusnee K (2001).** Meconial peritrophic membranes and the fate of midgut bacteria during mosquito (*Diptera: Culicidae*) metamorphosis. *Journal of medical entomology*, 38(1), 29-32.
- Monod J (1950).** La technique de culture continue: Théorie et applications. *Annales de l'Institut Pasteur*, 79, pp. 390–410.
- Montenegro H, Petherwick AS, Hurst GDD, Klaczko LB (2006).** Fitness effects of *Wolbachia* and *Spiroplasma* in *Drosophila melanogaster*. *Genetica*, 127(1-3), 207-215.
- Montllor CB, Maxmen A, Purcell AH (2002).** Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrtosiphon pisum* under heat stress. *Ecological Entomology*, 27:189–195.
- Moraes APR, Videira SS, Bittencourt VREP, Bittencourt AJ (2014).** Antifungal activity of *Stenotrophomonas maltophilia* in *Stomoxys calcitrans* larvae. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(2), 194-199.

- Morin PJ (1981).** Predatory salamanders reverse the outcome of competition among three species of anuran tadpoles. *Science*, 212(4500), 1284-1286.
- Morse DH (1971).** Effects of the arrival of a new species upon habitat utilization by two forest thrushes in Maine. *The Wilson Bulletin*, 57-65.
- Mukerji MK & Harcourt DG (1970).** Spatial pattern of the immature stages of *Hylemya brassicae* on cabbage. *The Canadian Entomologist*, 102(10), 1216-1222.
- Mulsant ME & Rey C (1874).** Tribu des brévipennes. Famille des aléochariens. Septième branche: Myrmédoniaires. In *Annales de la Société d'agriculture de Lyon* (Vol. 6, pp. 33-727).
- Neveu N, Allo MR, Nénon JP, Langlet X, Brunel E, Lahmer M, Boivin G (1997).** The fine structure of the egg shells of the cabbage maggot, *Delia radicum* L.(Diptera: Anthomyiidae), and its relation with developmental conditions and oviposition site. *Canadian journal of zoology*, 75(4), 535-541.
- Ode PJ & Strand MR (1995).** Progeny and sex allocation decisions of the polyembryonic wasp *Copidosoma floridanum*. *Journal of Animal Ecology*, 213-224.
- Oliver KM, Russell JA, Moran NA, Hunter MS (2003).** Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 1803-1807.
- Oliver KM, MoranNA, Hunter MS (2006).** Costs and benefits of a superinfection of facultative symbionts in aphids. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1591), 1273-1280.
- O'Neill SL& Karr TL (1990).** Bidirectional incompatibility between conspecific populations of *Drosophila simulans*. *Nature (London)* 348, 178-180.
- Osorno JL, Torres R, Garcia CM (1992).** Kleptoparasitic behavior of the Magnificent Frigatebird: sex bias and success. *Condor*, 692-698.
- Outreman Y, Le Ralec A, Wajnberg E, Pierre JS (2005).** Effects of within-and among-patch experiences on the patch-leaving decision rules in an insect parasitoid. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 58(2), 208-217.
- Park T (1948).** Experimental studies of interspecies competition. I. Competition between populations of the flour beetles, *Tribolium confusum* Duval and *Tribolium castaneum* Herbst. *Ecological Monographs*, 18, 265-308.
- Patot S, Martinez J, Allemand R, Gandon S, Varaldi J, Fleury F (2010).** Prevalence of a virus inducing behavioural manipulation near species range border. *Molecular ecology*, 19(14), 2995-3007.

- Patot S, Allemand R, Fleury F, Varaldi J (2012).** An inherited virus influences the coexistence of parasitoid species through behaviour manipulation. *Ecology letters*, 15(6), 603-610.
- Pennacchio F & Strand MR (2006).** Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annual review of entomology*, 51, 233-258.
- Peschke K, Friedrich P, Gantert C, Metzler M (1996).** The use of the tergal gland defensive secretion in male intrasexual aggression of the rove beetle, *Aleochara curtula* (Coleoptera: Staphylinidae), measured by closed-loop-stripping-analyses and tandem bioassay—mass fragmentography. *Chemoecology*, 7(1), 24-33.
- Petersen G & Hardy IC (1996).** The importance of being larger: parasitoid intruder–owner contests and their implications for clutch size. *Animal Behaviour*, 51(6), 1363-1373.
- Poelman EH, Gols R, Gumovski AV, Cortesero AM, Dicke M, Harvey JA (2014).** Food plant and herbivore host species affect the outcome of intrinsic competition among parasitoid larvae. *Ecological Entomology*.
- Polis GA, Myers CA, Holt RD (1989).** The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annual review of ecology and systematics*, 297-330.
- Pont AC (1981).** The Linnaean species of the families Fanniidae, Anthomyiidae and Muscidae (Insecta: Diptera). *Biological Journal of the Linnean Society*, 15(2), 165-175.
- Prasad RP & Snyder WE (2004).** Predator interference limits fly egg biological control by a guild of ground-active beetles. *Biological control*, 31(3), 428-437.
- Price PW (1973).** Parasitoid strategies and community organization. *Environmental Entomology*, 2(4), 623-626.
- Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, ..., Weissenbach J (2010).** A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59-65.
- Reader PM & Jones TH (1990).** Interactions between an eucoilid [*Hymenoptera*] and a staphylinid [*Coleoptera*] parasitoid of the cabbage root fly. *Entomophaga*, 35(2), 241-246.
- Rees M, Condit R, Crawley M, Pacala S, Tilman D (2001).** Long-term studies of vegetation dynamics. *Science*, 293(5530), 650-655.
- Reuter OM, Buch A, Buch A (1913).** *Lebensgewohnheiten und Instinkte der Insekten bis zum Erwachen der sozialen Instinkte*. R. Friedländer.

- Ridley EV, Wong AC, Westmiller S, Douglas AE (2012).** Impact of the resident microbiota on the nutritional phenotype of *Drosophila melanogaster*. *PLoS One*, 7(5), e36765.
- Robinson CJ, Schloss P, Ramos Y, Raffa K, Handelsman J (2010).** Robustness of the bacterial community in the cabbage white butterfly larval midgut. *Microbial ecology*, 59(2), 199-211.
- Root RB (1967).** The niche exploitation pattern of the blue-gray gnatcatcher. *Ecological monographs*, 37(4), 317-350.
- Rosenberg E, Koren O, Reshef L, Efrony R, Zilber-Rosenberg I (2007).** The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 5(5), 355-362.
- Ross ST (1986).** Resource partitioning in fish assemblages: a review of field studies. *Copeia*, 352-388.
- Rousset F, Bouchon D, Pintureau B, Juchault P, Solignac M (1992).** *Wolbachia* endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 250(1328), 91-98.
- Royer L, Fournet S, Brunel E, Boivin G (1999)** Intra- and interspecific host discrimination by host-seeking larvae of coleopteran parasitoids. *Oecologia*, 118(1), 59-68.
- Sachet J, Poncet B, Roques A, Despres L (2009).** Adaptive radiation through phenological shift: the importance of the temporal niche in species diversification. *Ecological Entomology*, 34(1), 81-89.
- Safina C, Burger J, Gochfeld M, Wagner RH (1988).** Evidence for prey limitation of common and roseate tern reproduction. *Condor*, 852-859.
- Salt GEORGE (1961).** Competition among insect parasitoids. *Symposia of the Society for Experimental Biology* (Vol. 15, No. 96, p. 119).
- Samin N, Zhou H, Imani S, Rastegar J (2011).** A contribution to the knowledge of Iranian staphylinidae (Coleoptera: Staphylinoidea). *Archives of Biological Sciences*, 63(4), 1235-1243.
- Santos A & Quicke DL (2011).** Large-scale diversity patterns of parasitoid insects. *Entomological Science*, 14(4), 371-382.
- Scarborough CL, Ferrari J, Godfray HCJ (2005).** Aphid protected from pathogen by endosymbiont. *Science*, 310(5755), 1781-1781.
- Schluter D (2000).** Ecological character displacement in adaptive radiation. *The American Naturalist*, 156(S4), S4-S16.

- Schmidt MH, Lauer A, Purtauf T, Thies C, Schaefer M, Tscharntke T (2003).** Relative importance of predators and parasitoids for cereal aphid control. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1527), 1905-1909.
- Schoener TW (1983)** Field experiments on interspecific competition. *The American Naturalist*, 240-285.
- Sharon G, Segal D, Ringo JM, Hefetz A, Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E (2010).** Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(46), 20051-20056.
- Shelomi M, Lo WS, Kimsey LS, Kuo CH (2013).** Analysis of the gut microbiota of walking sticks (*Phasmatodea*). *BMC research notes*, 6(1), 368.
- Sinclair ARE, Mduma S, Brashares JS (2003).** Patterns of predation in a diverse predator–prey system. *Nature*, 425(6955), 288-290.
- Slansky Jr F (1986).** Nutritional ecology of endoparasitic insects and their hosts: an overview. *Journal of Insect Physiology*, 32(4), 255-261.
- Snyder WE, Clevenger GM, Eigenbrode SD (2004).** Intraguild predation and successful invasion by introduced ladybird beetles. *Oecologia*, 140(4), 559-565.
- Sorribas J, Rodríguez R, Garcia-Mari F (2010).** Parasitoid competitive displacement and coexistence in citrus agroecosystems: linking species distribution with climate. *Ecological Applications*, 20(4), 1101-1113.
- Stahly DP, Andrews RE, Yousten AA (2006).** The genus *Bacillus*—insect pathogens. In *The prokaryotes* (pp. 563-608). Springer US.
- Stilmant D, Van Bellinghen C, Hance T, Boivin G (2008).** Host specialization in habitat specialists and generalists. *Oecologia*, 156(4), 905-912.
- Stokkebo S & Hardy IC(2000).** The importance of being gravid: egg load and contest outcome in a parasitoid wasp. *Animal Behaviour*, 59(6), 1111-1118.
- Stolk C & Stouthamer R (1996).** Influence of a cytoplasmic incompatibility-inducing *Wolbachia* on the fitness of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*. *Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society*, N.E.V. Amsterdam, 7, 33-37.

- Stouthamer R, Luck RF, Hamilton WD (1990).** Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* (Hymenoptera/Trichogrammatidae) to revert to sex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(7), 2424-2427.
- Strand MR & Pech LL (1995).** Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annual review of entomology*, 40(1), 31-56.
- Strand MR & Grbic M (1996).** The development and evolution of polyembryonic insects. *Current topics in developmental biology*, 35, 121-159.
- Tannerfeldt M, Elmhagen B, Angerbjörn A (2002).** Exclusion by interference competition? The relationship between red and arctic foxes. *Oecologia*, 132(2), 213-220.
- Tilman D (1977).** Resource competition between plankton algae: an experimental and theoretical approach. *Ecology*, 338-348.
- Tilman D, Kilham SS, Kilham P (1982).** Phytoplankton community ecology: the role of limiting nutrients. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 349-372.
- Tillman PG& Powell JE (1992)** Intraspecific host discrimination and larval competition in *Microplitis croceipes*, *Microplitis demolitor*, *Cotesia kazak* (HYM.: Braconidae) and *Hyposoter didymator* HYM: Ichneumonidae), parasitoids of *Heliothis virescens* (LEP.: Noctuidae). *Entomophaga*, 37(3), 429-437.
- Tilman D (2004).** Niche tradeoffs, neutrality, and community structure: a stochastic theory of resource competition, invasion, and community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(30), 10854-10861.
- Tsuchida T, Koga R, Horikawa M, Tsunoda T, Maoka T, Matsumoto S, ...,Fukatsu T (2010).** Symbiotic bacterium modifies aphid body color. *Science*, 330(6007), 1102-1104.
- Turlings TC, Van Batenburg FDH, van Strien-van Liempt WT (1985).** Why is there no interspecific host discrimination in the two coexisting larval parasitoids of *Drosophila* species; *Lepyopilina heterotoma* (Thomson) and *Asobara tabida* (Nees). *Oecologia*, 67(3), 352-359.
- Van Alphen JJ& Visser ME (1990).** Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual review of entomology*, 35(1), 59-79.
- Van Baaren J, Boivin G, Nénon JP (1994).** Intra-and interspecific host discrimination in two closely related egg parasitoids. *Oecologia*, 100(3), 325-330.

- Van Beneden P (1875).** *Les Commensaux et les Parasites*. Bibliothèque Scientifique Internationale, Paris, France.
- Van Lenteren JC (1981).** Host discrimination by parasitoids. *Semiochemicals: their role in pest control*. Wiley, New York, 153-179.
- Vasanthakumar A, Handelsman J, Schloss PD, BauerLS, Raffa KF (2008).** Gut microbiota of an invasive subcortical beetle, *Agrilus planipennis* Fairmaire, across various life stages. *Environmental entomology*, 37(5), 1344-1353.
- Vellend M (2006).** The consequences of genetic diversity in competitive communities. *Ecology*, 87(2), 304-311.
- Venner S, Pélisson PF, Bel-Venner MC, Débias F, Rajon E, Menu F (2011).** Coexistence of insect species competing for a pulsed resource: toward a unified theory of biodiversity in fluctuating environments. *PloS one*, 6(3), e18039.
- Vet LE, Meyer M, Bakker K, Van Alphen JJM (1984).** Intra-and interspecific host discrimination in *Asobara* (Hymenoptera) larval endo-parasitoids of *Drosophilidae*: Comparison between closely related and less closely related species. *Animal behaviour*, 32(3), 871-874.
- Vinson SB & Hegazi EM (1998).** A possible mechanism for the physiological suppression of conspecific eggs and larvae following superparasitism by solitary endoparasitoids. *Journal of Insect Physiology*, 44(9), 703-712.
- Visser ME (1996).** The influence of competition between foragers on clutch size decisions in an insect parasitoid with scramble larval competition. *Behavioral Ecology*, 7(1), 109-114.
- Waage J & GreatheadD (1986).** *Insect parasitoids*. Academic Press.(Ed.)
- Wang XG & Messing RH (2004).** The ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), attacks other primary tephritid fruit fly parasitoids: host expansion and potential non-target impact. *Biological Control*, 31(2), 227-236.
- Werren JH (1997).** Biology of *Wolbachia*. *Annual review of entomology*, 42(1), 587-609.
- Wiens JJ & Graham CH (2005).** Niche conservatism: integrating evolution, ecology, and conservation biology. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 519-539.
- Wiens JJ (2011).** The niche, biogeography and species interactions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1576), 2336-2350.

Wilson SD & Tilman D (1993). Plant competition and resource availability in response to disturbance and fertilization. *Ecology*, 74(2), 599-611.

Whitehouse ME (1997). Experience influences male–male contests in the spider *Argyrodes antipodiana* (Theridiidae: Araneae). *Animal Behaviour*, 53(5), 913-923.

Whitehouse MEA & Lubin Y (1999). Competitive foraging in the social spider *Stegodyphus dumicola*. *Animal behaviour*, 58(3), 677-688.

Wittmer HU, Sinclair AR, McLellan BN (2005). The role of predation in the decline and extirpation of woodland caribou. *Oecologia*, 144(2), 257-267.

Yamada YY & Sugaura K (2003). Evidence for adaptive self-superparasitism in the dryinid parasitoid *Haplogonatopus atratus* when conspecifics are present. *Oikos*, 103(1), 175-181.

Zchori-Fein E, Gottlieb Y, Kelly SE, Brown JK, Wilson JM, Karr TL, Hunter MS (2001). A newly discovered bacterium associated with parthenogenesis and a change in host selection behavior in parasitoid wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(22), 12555-12560.

ANNEXE 2 (Modèle dernière page de thèse)

VU :

VU :

Le Directeur de Thèse

(Nom et Prénom)

Le Responsable de l'École Doctorale

VU pour autorisation de soutenance

Rennes, le

Le Président de l'Université de Rennes 1

Guy CATHELINEAU

VU après soutenance pour autorisation de publication :

☐ Avec modifications

☐ Sans modifications

Le Président de Jury,

(Nom et Prénom)

Si modifications à faire, validation par le directeur de thèse du manuscrit corrigé avec attestation

Résumé

Lorsque deux espèces exploitent la même niche écologique, elles entrent en compétition pour l'accès aux ressources. Or, un accès limité aux ressources réduit la fitness des individus. La compétition interspécifique va donc agir comme une pression de sélection qui peut mener à des modifications physiologiques ou comportementales pour partager les ressources, car si elles ne sont pas partagées la compétition entraînera le déplacement ou la disparition d'une des deux espèces. *Aleochara bilineata* et *A. bipustulata* sont deux coléoptères staphylins parasitoïdes qui s'attaquent à la mouche du chou *Delia radicum*. Elles ont des paramètres biologiques différents, notamment au niveau des traits d'histoire de vie (qui semblent avantager *A. bipustulata*) et du spectre d'hôtes (plus généraliste chez *A. bipustulata*). Ces deux espèces partagent cependant la même stratégie d'exploitation des hôtes et présentent l'originalité que la femelle pond ses œufs à proximité des hôtes et non à l'intérieur, ce qui les distingue des hyménoptères parasitoïdes qui font l'objet de nombreuses études. La larve *Aleochara* de premier stade est donc mobile et doit trouver et sélectionner elle-même un hôte pour s'y développer. Il y a ainsi des possibilités d'adaptations comportementales à la compétition à la fois pour les adultes et les larves de premier stade. Dans ce projet de thèse, nous avons donc choisi d'explorer la niche écologique de ces deux espèces de façon originale en étudiant les modifications comportementales induites par la présence de compétiteurs à la fois chez les femelles adultes et les larves de premier stade. Nous avons également identifié les communautés bactériennes associées aux deux espèces en compétition mais aussi à leur hôte *D. radicum* et à un autre compétiteur parasitoïde, l'hyménoptère *Trybliographa rapae*, dans le but d'étudier ultérieurement les impacts des différents partenaires bactériens sur la niche écologique des deux espèces de coléoptères en compétition. Nos résultats montrent que les femelles de l'espèce spécialiste *A. bilineata* adaptent leurs comportements aux compétiteurs qu'elles rencontrent et sélectionnent les sites de ponte présentant les meilleures chances de succès parasitaire pour leurs larves. Par ailleurs, les larves de premier stade de l'espèce spécialiste dominent largement la compétition larvaire lorsqu'elles sont en compétition avec les larves de l'espèce généraliste. Enfin, les communautés bactériennes des deux espèces de coléoptères sont plus proches entre elles qu'avec les autres membres du réseau trophique étudiés mais comportent des différences à explorer. Ces résultats sont discutés dans le cadre de l'adaptation des choix comportementaux des individus d'une espèce spécialiste à la présence de compétiteurs généralistes et de la coexistence de ces deux espèces dans le milieu naturel.

Mots clés : niche écologique, compétition, modifications comportementales, adaptation, communautés bactériennes, réseau trophique, coexistence, *Aleochara*, coléoptère parasitoïde.