

Université de Montréal

**Quantification des effets du superparasitisme sur la valeur
adaptative et la survie des couvées chez *Trichogramma
euproctidis* Girault.**

par Jean-François Duval

Département de Sciences Biologiques
Faculté des Arts et Sciences

Mémoire présenté
en vue de l'obtention du grade de M.Sc.
en Sciences Biologiques

Décembre 2017

© Jean-François Duval, 2017

Résumé

Le superparasitisme influence les gains de valeur adaptative des insectes parasitoïdes adultes et immatures. La plupart des études ont montré que l'augmentation du délai entre deux pontes dans le même hôte diminue les probabilités de survie de la seconde couvée. Dans cette étude, l'effet du délai entre les pontes sur la valeur adaptative de la progéniture a été évalué grâce à deux lignées distinctes de *Trichogramma euproctidis* exploitant des œufs d'*Ephestia kuehniella* à différents intervalles. Nous avons observé la ponte afin de déceler les tentatives d'infanticide sur la première couvée, puis déterminer l'identité de la couvée gagnante à l'émergence. La taille des adultes a été mesurée comme paramètre de la valeur adaptative. Des hôtes parasités ont été disséqués afin de mesurer le temps de développement des embryons et de déceler des blessures aux œufs. Nos résultats indiquent un avantage marqué (> 90% de survie) de la deuxième couvée sur la première couvée lorsque le délai entre les pontes est court (0-1 h). Les délais plus longs permettent rarement à la deuxième couvée de survivre (< 4% de survie), sauf lorsque les femelles hyperparasitent les larves compétitrices (39-41 h; 57,1% de survie). Chez *T. euproctidis* les embryons éclosent entre 32 et 35 h à 24 ± 1 °C, toutefois, en condition de superparasitisme l'éclosion débute à partir de 28 h. Nos résultats suggèrent que le superparasitisme polygyne entraîne une accélération du développement embryonnaire ce qui permet à la deuxième couvée de monopoliser les ressources de l'hôte lorsque les pontes sont rapprochées.

Mots-clés : Délai d'oviposition; Hyperparasitisme facultatif; Compétition par exploitation; Infanticide; Discrimination d'hôtes; Lutte biologique; *Trichogramma*.

Abstract

In insect parasitoids, superparasitism influences the fitness of both the adult and its progeny. Most studies on superparasitism found that the first clutch laid in a host had the highest probability to survive and that this probability increased with the time interval between ovipositions. To examine the effects of superparasitism time intervals on survival and fitness (parasitoid size) of both clutches, we allowed two genetically distinguishable lines of the egg parasitoid *Trichogramma euproctidis* to parasitize previously parasitized *Ephesttia kuehniella* host eggs at different time intervals. We investigated females' behavior at oviposition to detect infanticide attempts then allowed immatures to fully develop in order to determine the winning clutch. We measured body size of winning individuals as a proxy of their fitness. We finally dissected host eggs to determine duration of embryonic development in *T. euproctidis*, and examined eggs to detect damages. In short intervals (0-1 h), we found a significant advantage for the second clutch over the first clutch, with over 90% survival. In contrast, the second clutch was outcompeted in longer delays (< 4% survival), except when females hyperparasitized larvae (39-41 h; 57% survival). Winning individuals were smaller than control individuals in treatments where the second clutch was competitive. *Trichogramma euproctidis* embryos hatch in 32 to 35 hours at 24 ± 1 °C, but hatching started at around 28h in conditions of superparasitism. These results suggest that a competition-induced development rate acceleration is triggered, but only in conditions of polygynous superparasitism.

Key words : Oviposition time intervals; Facultative intraspecific hyperparasitism; Scramble competition; Infanticide; Host discrimination; Biological control; *Trichogramma*.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des figures.....	v
Liste des abréviations.....	vii
Remerciements.....	viii
Introduction.....	1
Chapitre 1 : Revue de littérature et concepts théoriques.....	6
1.1 Valeur adaptative.....	6
1.2 Théorie de la quête optimale et de la diète optimale.....	7
1.3 Parasitoïdes.....	8
1.3.1 Notions générales.....	8
1.3.2 Réponse immunitaire des hôtes.....	9
1.3.3 Trichogrammes.....	11
1.4 Compétition.....	12
1.4.1 Notions générales.....	12
1.4.2 Compétition extrinsèque.....	12
1.4.3 Compétition intrinsèque.....	13
1.4.4 Superparasitisme.....	14
1.4.5 Stratégies de compétition des parasitoïdes.....	19
Chapitre 2 : Impact of superparasitism time intervals on progeny survival and fitness of an egg parasitoid.....	25
Abstract.....	28
Introduction.....	29
Material and Methods.....	31
Results.....	34

Discussion.....	35
Acknowledgements.....	39
References.....	39
Figures.....	46
Chapitre 3: Competition-induced development rate acceleration in embryos provides competitive advantage under superparasitism in an egg parasitoid.....	49
Abstract.....	52
Introduction.....	53
Material and Methods.....	54
Results.....	57
Discussion.....	58
Acknowledgements.....	62
References.....	62
Figures.....	67
Conclusion.....	70
Bibliographie.....	i

Liste des figures

Figure 1. Percent survival ($X \pm SE$) of *T. euproctidis* progeny following superparasitism in *E. kuehniella* host eggs at different oviposition time intervals (T1 : 0-1 h, n=59; T2 : 17-19 h, n=47; T3 : 27-29 h, n=54; T4 : 38-41 h, n=56; T5 : 124-126 h, n=5). Mean survival of the second clutch was obtained by pooling data from both *T. euproctidis* lines (A5 and C14; see text for details). Different letters above bars indicate significant differences among treatments (Fisher's exact test). 46

Figure 2. Percent parasitoid mortality ($X \pm SE$) in *T. euproctidis* following superparasitism in *E. kuehniella* host eggs at different oviposition time intervals (T1 : 0-1 h, n=93; T2 : 17-19 h, n=74; T3 : 27-29 h, n=65; T4 : 39-41 h, n=118; T5 : 124-126 h, n=11). Parasitoid mortality refers to hosts from which no adult parasitoid had emerged. Mean parasitoid mortality was obtained by pooling data from both *T. euproctidis* lines (A5 and C14; see text for details). Different letters above bars indicate significant differences among treatments (Fisher's exact test). 46

Figure 3. Percent infanticide attempts by superparasitizing *T. euproctidis* females ($X \pm SE$), at different oviposition intervals (T1 : 0-1 h, n=98; T2 : 17-19 h, n=74; T3 : 27-29 h, n=66; T4 : 39-41 h, n=120; T5: 124-126 h, n=11). Means were obtained by pooling data from both *T. euproctidis* lines (A5 and C14; see text for details). Different letters above bars indicate significant differences among treatments (Fisher's exact test). 47

Figure 4. Mean hind tibia size ($X \pm SE$) for *T. euproctidis* emerging from superparasitized *E. kuehniella* host eggs at different oviposition intervals (T1: 0-1 h, n=56; T2: 17-19 h, n=52; T3: 27-29 h, n=41; T34: 39-41 h, n=66) and from non-superparasitized control host eggs (n=32). Dots on the figure are outliers. Mean sizes of both *T. euproctidis* lines were pooled (A5 and C14; see text for details). Different letters above bars indicate significant differences among treatments (Least-squares means). 47

Figure 5. Percent *E. kuehniella* host eggs containing at least one hatched *T. euproctidis* larva ($X \pm SE$) at different time following oviposition for parasitized (control) and superparasitized hosts. 67

Figure 6. Percent superparasitized *E. kuehniella* host eggs where all *T. euproctidis* clutches have hatched ($X \pm SE$), at different time following oviposition. 67

Figure 7. *Trichogramma euproctidis* egg volume (μm^3) at different time following oviposition. Control hosts (small asterisks; solid curve) contained one egg each. Superparasitized hosts contained two eggs each which were divided in two groups: largest parasitoid eggs of each host (circles; long-dashed curve) and smallest parasitoid eggs of each host (lozenges; small-dashed curve). 68

Figure 8. Probabilités d’une femelle trichogramme de trouver un hôte sain à mesure que les hôtes sont parasités dans l’agrégat. Lorsque 10% des hôtes sont parasités, la probabilité de rejeter l’hôte et d’obtenir 0 rejeton est égale à la probabilité d’obtenir un rejeton en superparasitant le premier hôte trouvé (0,9). À ce seuil, la femelle devient généraliste, tel que proposé par Heller (1980). La pente de la droite est fonction de la richesse de l’agrégat, en cohérence avec les prédictions du théorème de la valeur marginale (Charnov, 1976). 73

Liste des abréviations

DNA : *Deoxyribonucleic Acid*

L:D : *Light : Darkness*

L1, L2, LX : Premier stade larvaire, second stade larvaire, etc.

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

RAPD : *Random Amplification of Polymorphic DNA*

T1, T2, TX : Traitement numéro 1, 2, etc.

Remerciements

J'aimerais remercier chaleureusement mes directeurs Guy Boivin et Jacques Brodeur de m'avoir donné cette opportunité immense de me développer comme étudiant chercheur à leur côté. Rien ne vaut autant dans un cheminement personnel ou professionnel qu'avoir près de soi des mentors expérimentés, généreux et disponibles. J'ai trouvé tout cela en vous, et beaucoup plus encore.

J'aimerais également remercier du fond du cœur toutes les professionnelles de recherche qui m'ont épaulé sans relâche au cours de ce parcours : Josée Doyon, Julie Frenette, Danielle Thibodeau et Josiane Vaillancourt. Votre précieuse contribution a rendu mon cheminement beaucoup plus facile et mon moral beaucoup plus solide. C'est une richesse d'être entouré de gens d'une telle qualité.

Finalement, j'aimerais remercier ma famille et ma conjointe Nathalie d'avoir soutenu sans retenue ma démarche académique. Grâce à ce soutien, j'ai osé reprendre les études et il va de soi que sans cette fondation solide, je n'aurais jamais pu traverser les nombreuses difficultés rencontrées. Merci!

Introduction

Contexte général

Les modèles d'optimisation découlant de la théorie de la quête optimale (« optimal foraging theory ») (MacArthur et Pianka, 1966; Emlen, 1966) sont utilisés en écologie comportementale afin de prédire le comportement des individus dans un contexte donné. Pour faire ces prédictions, on utilise une unité de mesure du succès des individus qui varie selon les choix effectués par ces derniers : la valeur adaptative (« *fitness* ») (Pyke, 1994). En imposant un ensemble de contraintes prédéterminées à des sujets, on peut quantifier l'impact de ces contraintes sur le gain de valeur adaptative des individus et tenter de prédire les comportements qui seront exprimés par ceux-ci en conditions sous-optimales.

Parmi les contraintes qui influencent directement le comportement et le gain de valeur adaptative à vie d'un individu, la compétition s'avère un facteur majeur. Nombre d'études chez différents groupes d'animaux et de plantes ont montré qu'elle entraîne une série de conséquences négatives (p.ex. la diminution de la disponibilité des ressources) qui peuvent se traduire par une perte de valeur adaptative pour l'adulte ou pour sa progéniture (Brockelman, 1975; Bach et al., 1976; Goldberg et Barton, 1990; Boivin et Lagacé, 1999; Both et Visser, 2000; Tena et al., 2008; Harvey et al., 2013). Bien qu'il s'avère habituellement plus avantageux pour un individu d'éviter la compétition, certains contextes peuvent rendre celle-ci plus profitable que son évitement (p. ex. en situation de rareté des ressources).

Le modèle de la diète optimale (MacArthur et Pianka, 1966; Emlen, 1966) prédit qu'un parasitoïde exploitant un agrégat d'hôtes dont la qualité varie sous l'effet de la compétition (p.ex. un agrégat mixte d'hôtes parasités et sains) optimisera son taux de gain de valeur adaptative en quittant l'agrégat lorsqu'il n'arrive plus à satisfaire sa préférence, par exemple pour les hôtes sains. La stratégie de spécialisation étendue (« *expanding specialist strategy* »; Heller, 1980) prédit quant à elle qu'un parasitoïde exprime des préférences variables pour les hôtes à mesure que la qualité de l'agrégat diminue. L'individu exploite d'abord les ressources de meilleure qualité, puis au-delà d'un certain seuil, leur rareté fait suffisamment diminuer le

taux de gain de valeur adaptative de l'individu pour qu'il exploite aussi des hôtes de moindre qualité (Heller, 1980; Barette et al., 2010).

La courte durée de vie et la forte relation entre le nombre d'œufs pondus et la valeur adaptative des parasitoïdes en font d'excellents modèles biologiques pour étudier les effets de la compétition sur les gains de valeur adaptative des individus (Speirs et al., 1991; Godfray, 1994). Cette étude c'est intéressée à une forme de compétition propre aux parasitoïdes : le superparasitisme. Ce phénomène survient lorsque deux (ou plusieurs) femelles d'une même espèce pondent dans ou sur le même hôte (selon que l'espèce soit endoparasitoïde ou ectoparasitoïde). Le superparasitisme s'accompagne parfois de comportements agressifs chez l'adulte ou la larve, dont l'infanticide mécanique et l'agression entre larves (Mackauer, 1990; van Baaren et al., 1995; Tena et al., 2008). Contrairement à la prédation, les ressources utilisées lors du parasitisme demeurent disponibles dans l'environnement pendant un certain temps, pouvant entraîner plusieurs types de compétition (Godfray, 1994). Ainsi, il peut y avoir une compétition directe (exploitation simultanée de la ressource) ou indirecte (exploitation alternée de la ressource) entre les adultes, mais aussi une compétition directe entre les immatures qui exploitent l'hôte.

Dans la plupart des cas documentés de superparasitisme, le premier immature pondus dans l'hôte a une plus forte probabilité de remporter la compétition que les immatures pondus subséquentement. Cette probabilité augmente avec le temps qui s'écoule entre les pontes (Pak et Oatman, 1982; Speirs et al., 1991; Godfray, 1994; van Baaren et al., 1995a; Tena et al., 2008; Harvey et al., 2013). Le succès de la première couvée est attribué soit à la plus grande agressivité des larves plus âgées, à la monopolisation des ressources par celles-ci, ou encore à la suppression physiologique des larves plus jeunes (Pak et Oatman, 1982; Chow et Mackauer, 1984; Bakker et al., 1985; Strand, 1986; Strand et Godfray, 1989; Boivin et Brodeur, 2006). Toutefois, chez *Trichogramma euproctidis* Girault (Hymenoptera : Trichogrammatidae), un endoparasitoïde facultativement grégaire des œufs de lépidoptères, Durocher-Granger (2011) a constaté que lorsque deux femelles pondent dans le même hôte (d'une espèce dont l'œuf ne supporte le développement que d'un seul trichogramme) avec un court intervalle entre les pontes (jusqu'à une heure), la progéniture de la seconde femelle a environ 80% de probabilité

de gagner la compétition. Des observations préliminaires suggèrent que ce phénomène se produit également entre trichogrammes d'espèces différentes (multiparasitisme chez *Trichogramma minutum* et *Trichogramma pintoi*; Félix-Antoine Robert, communication personnelle), ce qui suggère de possibles exceptions au patron généralement observé chez les parasitoïdes.

Objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude étaient de :

- 1) Confirmer et quantifier l'avantage de la deuxième couvée sur la première couvée lors du superparasitisme à intervalle court chez *T. euproctidis*;
- 2) Déterminer si l'intervalle entre les pontes influence le succès de la deuxième couvée;
- 3) Examiner les mécanismes développés par *T. euproctidis* pour remporter la compétition et diminuer le coût en valeur adaptative associé au superparasitisme.

Pour répondre à ces objectifs, nous avons premièrement sélectionné des intervalles de ponte de manière à synchroniser le moment du superparasitisme avec les différents stades de développement du premier parasitoïde immature et nous avons examiné la question suivante : le stade de développement du premier immature au moment de la deuxième ponte est-il important dans la résolution de la compétition? Deuxièmement, nous avons tenté d'identifier le ou les mécanismes utilisés par l'adulte ou l'immature pour remporter la compétition en situation de superparasitisme. Les questions abordées étaient : la seconde femelle influence-t-elle le résultat de la compétition intrinsèque et, si oui, par quel(s) moyen(s)? L'immature influence-t-il le résultat de la compétition intrinsèque et, si oui, par quel(s) moyen(s)? Nous avons donc procédé à des observations comportementales afin de déceler tout comportement susceptible d'être associé aux mécanismes de compétition chez l'adulte. Nous avons aussi procédé à des dissections d'hôtes parasités pour déceler des traces d'attaques physiques par les femelles sur les œufs ou par les larves sur leurs compétiteurs. Les dissections nous ont

également permis de décrire le développement de l'embryon de trichogramme seul dans l'hôte ou en situation de superparasitisme.

Cette étude présente un intérêt particulier quant à la compréhension des mécanismes de compétition des agents de lutte biologique, dont font partie les trichogrammes. Plusieurs espèces de ce groupe sont actuellement utilisées en agriculture pour contrôler des insectes ravageurs (Smith, 1996; Mills, 2009), ce qui permet de réduire l'usage d'insecticides de synthèse potentiellement nocifs pour la santé et l'environnement. Le lâcher inondatif de parasitoïdes adultes, qui consiste à concentrer un grand nombre d'individus à un endroit qu'on désire protéger, est une méthode couramment employée avec les trichogrammes (Smith, 1996). On l'utilise dans plusieurs cultures dont le poivron, la canne à sucre, les alliacés, la betterave et les crucifères, et elle s'est montrée particulièrement efficace pour réduire les dommages dans le maïs, la tomate et l'olive (Mills, 2009). Ainsi, cette étude pourrait permettre de mieux comprendre et anticiper les interactions compétitives en conditions naturelles. Ces connaissances pourraient être utilisées dans diverses situations, notamment lors des lâchers inondatifs, mais également pour mieux saisir les dynamiques de population lorsque des agents de lutte biologique d'espèces différentes sont présents dans un même habitat, ou encore lors de l'introduction d'agents de lutte d'origine étrangère pouvant potentiellement entrer en compétition avec des espèces indigènes.

Hypothèses et prédictions

1. **Hypothèse** : Le stade de développement du premier immature au moment de la seconde ponte (œuf, larve ou pupa) joue un rôle déterminant dans la résolution de la compétition lors du superparasitisme chez *T. euproctidis*.

1.1 Prédiction

1) Le second immature a une probabilité plus élevée de remporter la compétition lorsque le premier immature est au stade d'œuf ou de larve au moment de la seconde ponte.

2) Les ressources de l'hôte étant déjà épuisées, le second immature a une probabilité plus faible de remporter la compétition lorsque le premier immature a atteint le stade de pupe au moment de la seconde ponte.

2. **Hypothèse** : En situation de superparasitisme, la seconde femelle *T. euprotidis* élimine le/les immature(s) déjà présent(s) dans l'hôte.

2.1 **Prédiction**

1) Deux couvées n'exploitent jamais le même hôte simultanément.

2) La seconde femelle utilise un moyen chimique (venin, enzyme) pour neutraliser le premier immature lorsque celui-ci est au stade d'œuf.

3) La seconde femelle utilise l'attaque physique pour neutraliser le premier immature lorsque celui-ci a atteint le stade de larve ou de pupe.

Chapitre 1 : Revue de littérature et concepts théoriques

1.1 Valeur adaptative

La valeur adaptative est un concept essentiel de l'écologie comportementale et des sciences de l'évolution. La théorie de la sélection naturelle prédit que les caractéristiques physiologiques et comportementales sont sélectionnées si elles permettent de maximiser la valeur adaptative à vie des individus ou en d'autres termes, de maximiser la transmission de leur génotype (Pyke, 1984; Stephens et Krebs, 1986; Bolhuis et Giraldeau, 2005). Pour qu'un comportement soit sélectionné et persiste dans une population, il faut que les gains obtenus grâce à celui-ci dépassent les coûts associés à son maintien (Boivin, 2010a).

La valeur adaptative est une mesure relative et probabiliste, car les probabilités de succès de chaque individu se comparent à celles du reste de la population dont il fait partie (Maynard-Smith, 1974). Elle peut être exprimée sous forme de valeur adaptative individuelle, lorsqu'on l'estime en comptabilisant la descendance d'un individu, et sous forme de valeur adaptative collective, qui représente la moyenne du succès reproductif de tous les individus d'un même génotype (Krebs et Davies, 1997).

La valeur adaptative est une mesure complexe à quantifier (Hoffmann, 1994) et on utilise la plupart du temps des mesures alternatives pour en obtenir une estimation (p.ex. la taille des individus, la fécondité, etc.) (Roitberg et al., 2001; Boivin, 2010a). Il faut toutefois demeurer prudent lorsqu'on utilise ces descripteurs, car ceux-ci ne reflètent pas forcément la valeur adaptative réelle de manière proportionnelle. Il est avisé d'utiliser plusieurs descripteurs pour obtenir une estimation plus juste de la valeur adaptative (Roitberg et al., 2001).

1.2 Théorie de la quête optimale et de la diète optimale

La théorie de la quête optimale (« *optimal foraging theory* ») est utilisée en écologie comportementale afin de prédire les comportements exprimés par des individus en quête de ressources. Elle présume que les individus optent en tout temps pour les comportements qui leur permettent de maximiser leur gain de valeur adaptative à vie. Sous l'effet de la sélection naturelle, les comportements les plus favorables seront sélectionnés dans la population et cette évolution atteindra son apogée lorsque les comportements sélectionnés s'approcheront de l'optimum sous l'ensemble des contraintes fonctionnelles possibles (Pyke, 1994). Cette théorie est en outre fondée sur un ensemble de prémisses :

- 1) La valeur adaptative d'un individu dépend des comportements exprimés lorsqu'il cherche des ressources.
- 2) Ces comportements, ou les règles qui les régissent, sont héréditaires et peuvent donc être transmis à la descendance.
- 3) L'effet des comportements exprimés sur le gain de valeur adaptative est perçu par les individus.

De cette théorie découle le modèle de la diète optimale (« *optimal diet model* » ou « *prey choice model* »). Ce modèle d'optimisation, utilisé pour prédire le comportement de sélection d'hôtes chez les parasitoïdes, a été formulé à l'origine pour prédire les choix alimentaires d'un prédateur solitaire en quête de proies, en répondant à deux questions principales : de quelles proies se nourrir et quand quitter un agrégat de proies dont la qualité diminue avec l'exploitation (MacArthur et Pianka, 1966; Stephens et al., 2008)? Ces questions ont généralement été étudiées séparément. Les individus sont classés en tant que spécialistes (préférence pour un type de proie précis) ou généralistes (aucune préférence). Dans un agrégat où la qualité des proies est variable, une proie de haute qualité sera toujours acceptée et une proie de basse qualité toujours rejetée par le spécialiste, alors qu'aucune proie ne sera refusée par le généraliste. Dans sa version originale (MacArthur et Pianka, 1966; Emlen, 1966), le modèle ne prévoit pas la possibilité d'une préférence partielle chez les individus. Cette

prédiction a peu de chances d'être observée en conditions naturelles, car la dichotomie entre spécialiste et généraliste s'étale plutôt sur un gradient (Barette et al., 2010).

Pour adapter le modèle aux nombreuses observations contraires à ses prédictions, Heller (1980) a introduit la notion de préférence étendue (« *expanding specialist model* »). Son modèle prédit qu'un prédateur exploitant un agrégat de proies peut avoir une préférence pour un type de proies particulier (tel un spécialiste), puis à mesure qu'il consomme celles-ci, leur rareté augmente et il peut alors choisir de consommer des proies de moindre qualité (tel un généraliste, ou spécialiste étendu) plutôt que de quitter l'agrégat immédiatement. Barette et al. (2010) ont montré que le temps de déplacement entre les agrégats pouvait influencer le seuil d'acceptabilité des hôtes de moindre qualité chez *Aphidius colemani* (Hyménoptera : Braconidae), un parasitoïde de pucerons. La femelle agit premièrement en spécialiste et ne parasite que les hôtes de meilleure qualité. Lorsque celles-ci se font plus rares, elle devient alors généraliste et exploite les hôtes de moindre qualité. Plus le temps de déplacement entre les agrégats est important, plus la femelle exploite rapidement les hôtes de moindre qualité, conformément aux prédictions du modèle d'Heller.

1.3 Parasitoïdes

1.3.1 Notions générales

Les insectes parasitoïdes, dont les trois principaux ordres sont les hyménoptères, les diptères et les coléoptères, sont des organismes parasites dont les stades immatures se développent au détriment d'hôtes (le plus souvent d'autres insectes) qu'ils consomment et ultimement, tuent (Godfray, 1994). Les ectoparasitoïdes se développent sur leur hôte et les endoparasitoïdes dans celui-ci. Les immatures des parasitoïdes solitaires se développent seuls dans leur hôte et on qualifie de grégaires les parasitoïdes dont les immatures se développent en groupe dans le même hôte. Les parasitoïdes grégaires obligatoires se développent toujours en groupe, alors que les grégaires facultatifs peuvent se développer seuls si les ressources ne suffisent qu'à un seul immature (Brodeur et Boivin, 2004).

On distingue les parasitoïdes idiobiontes et koïnobiontes selon que l'hôte soit respectivement tué (ou paralysé) au moment de l'oviposition ou maintenu en vie pendant le développement larvaire (Askew et Shaw, 1986). L'un des avantages du premier mode de développement est l'élimination presque totale des mécanismes de défense de l'hôte et l'arrêt de son développement au stade visé; en contrepartie, les ressources disponibles pour les larves sont alors fixes (Boivin, 2010b). La stratégie koïnobionte offre l'avantage que l'insecte parasité continue de s'alimenter et donc de fournir plus de ressources aux larves (Godfray, 1994). De plus, un hôte vivant permet une meilleure défense contre les ennemis naturels du parasitoïde, dont les hyperparasitoïdes (Maure et al., 2013). Toutefois, le mode koïnobionte expose le parasitoïde à la réponse immunitaire de l'hôte.

En général, les parasitoïdes ne s'attaquent qu'à un stade de vie précis de l'insecte hôte soit l'œuf, la larve, la pupa ou l'adulte (Strand et Pech, 1995). Certains parasitoïdes sont spécialistes et n'exploitent qu'un nombre restreint d'espèces hôtes, alors que d'autres parasitoïdes dits généralistes peuvent s'attaquer à un grand nombre d'espèces (Godfray, 1994).

1.3.2 Réponse immunitaire des hôtes

Les hôtes coévoluent avec leurs parasitoïdes et développent divers mécanismes de défense. La littérature nous informe surtout sur les défenses présentes chez les hôtes des stades larvaire, pupal et adulte (Vinson, 1990; Reed et al., 2007; Schmidt, 2007). Deux grandes catégories de défenses existent : les défenses qui précèdent le parasitisme et celles qui s'activent suite au parasitisme. La première catégorie inclut un ensemble de moyens très variés dont les comportements d'évitement (réduction des signaux qui révèlent la présence de l'hôte, tels que kairomones, fèces, sons, etc.), les comportements agressifs visant à décourager les femelles parasitoïdes de pondre et les caractéristiques physiques (p.ex., la rigidité de la cuticule qui empêche certains parasitoïdes de la transpercer de leur ovipositeur) (Strand et Pech, 1995; Parker et al., 2011). Lorsque le parasitoïde réussit à pondre ses œufs, la deuxième catégorie de défenses intervient. Cette catégorie inclut les défenses non-immunitaires (comportements de thermorégulation, anorexie, etc.) (Parker et al., 2011), la réponse immunitaire à médiation par les symbiotes (protection accrue grâce à des bactéries

symbiotiques chez certains insectes comme les pucerons) (Dion et al., 2011) ainsi que la réponse immunitaire de l'hôte. L'encapsulation des parasitoïdes est la principale forme de réponse immunitaire observée chez l'hôte, qu'elle soit cellulaire ou humorale (encapsulation via des particules lipidiques et mélanisation) (Strand et Pech, 1995; Schmidt, 2007). Par exemple, dans le cas de l'encapsulation cellulaire (régie par les hémocytes de l'hôte), après avoir reconnu que l'envahisseur ne fait pas partie du soi, l'hôte constitue une membrane cellulaire à plusieurs couches autour du parasitoïde et l'enkyste. Ce dernier meurt ensuite à l'intérieur du kyste par asphyxie ou cytotoxicité (Reed et al., 2007).

Il existe peu d'information sur la réponse immunitaire chez les œufs d'insectes parasités. Les parasitoïdes des œufs sont idiobiontes et tuent leur hôte lors de la ponte. Chez les insectes, on a longtemps considéré qu'il ne pouvait y avoir une réponse immunitaire qu'après la gastrulation de l'embryon, lorsque les hémocytes responsables de l'encapsulation sont formés (Abrams et al., 1993; Strand et Pech, 1995; Reed et al. 2007). Ainsi, les parasitoïdes des œufs auraient développé une forme d'évitement temporel de la réponse immunitaire en exploitant des hôtes privés de ces défenses (Strand et Pech, 1995). Toutefois, dans une des rares mentions de l'existence d'une réponse immunitaire chez les œufs, Abdel-Latief et Hilker (2008) ont démontré que les œufs de *Manduca sexta* (Lepidoptera : Sphingidae) soumis au parasitisme de *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) avaient une réponse immunitaire qui diminuait le taux de parasitisme effectif. Alors que 95% des hôtes à l'étude contenaient un œuf de trichogramme dans les premières 24 h suivant la ponte, seulement 64% des hôtes en contenaient encore un après 4 jours. La nature de cette réponse immunitaire doit être précisée et d'autres facteurs doivent aussi être considérés dont la mortalité par avortement (Abram et al. 2016). La réponse immunitaire des œufs serait liée à l'augmentation de certaines protéines immunitaires issues des tissus extraembryonnaires (Gorman et al., 2004). Finalement, une autre étude a montré que le parasitisme des œufs de *Phoracantha recurva* (Coleoptera : Cerambycidae) par *Avetianella longoi* (Hymenoptera : Encyrtidae) induisait une encapsulation des larves du parasitoïde (Reed et al., 2007).

1.3.3 Trichogrammes

Les trichogrammes font partie des hyménoptères parasitoïdes, un groupe très nombreux et diversifié qui pourrait représenter jusqu'à 20% de toutes les espèces d'insectes (Pennachio et Strand, 2006). On compte 210 espèces de trichogrammes à travers le monde, dont 60 espèces indigènes en Amérique du Nord (Pinto, 2006). Les trichogrammes sont des guêpes endoparasitoïdes des œufs (principalement de lépidoptères) mesurant généralement moins d'un millimètre. Leurs œufs hyménoptérimorphes mesurent entre 100 et 140 µm en longueur et 30 à 50 µm en largeur au moment de la ponte (Boivin, 2010b). Ils sont hydrophobes, c'est-à-dire qu'ils flottent librement dans les tissus liquéfiés de l'hôte qu'ils absorbent directement à travers leur membrane (Boivin, 2010b). La plupart des espèces de trichogrammes sont facultativement grégaires. Arrhénotoque, la femelle vierge produit uniquement des mâles haploïdes. Accouplée, elle contrôle le sexe de sa progéniture en utilisant ou non les spermatozoïdes qu'elle conserve dans sa spermathèque pour fertiliser ses œufs (Boivin, 2010b). La femelle marque une pause dans ses contractions abdominales au moment de pondre un œuf fertilisé (un œuf femelle) ce qui permet de prédire le sexe de l'individu à naître en observant le comportement de ponte (Suzuki et al., 1984; Moiroux et al., 2014; Robert et al., 2016). La larve, sacciforme, est peu mobile et pourvue de mandibules réduites (Boivin, 2010b). Le superparasitisme s'observe chez plusieurs espèces et parfois l'hyperparasitisme facultatif (Strand et Vinson, 1984).

1.3.3.1 *Trichogramma euproctidis* Girault

Cette étude s'est penchée sur *T. euproctidis*, un parasitoïde généraliste facultativement grégaire des œufs de lépidoptères qu'on retrouve sur tous les continents. La souche utilisée provient à l'origine d'Égypte (Genbank accession number HM116410). Le cycle de développement complet de l'immaturation s'échelonne sur dix jours à 24 °C. Suite à son éclosion dans l'hôte, la larve consomme l'ensemble des ressources de l'œuf en environ huit heures (Jarjees et Merritt, 2002). Elle se développe durant 72 h, puis relâche le méconium et amorce la pupaison. À ce moment, l'hôte parasité amorce un noircissement caractéristique.

Finalement, le développement pupal dure encore six jours et l'émergence de l'adulte a lieu en général vers le lever du jour (Doyon et Boivin, 2005).

1.4 Compétition

1.4.1 Notions générales

La compétition chez les parasitoïdes prend de nombreuses formes et de manière générale implique une interaction négative entre des membres d'une même guildes (qu'ils soient d'une même espèce ou non) (Morin, 2011). Cette étude c'est intéressée principalement de la compétition pour l'accaparement des hôtes par les parasitoïdes adultes et leur exploitation par les larves; les autres formes de compétition, dont la compétition pour les partenaires sexuels, sont exclues.

1.4.2 Compétition extrinsèque

Chez les parasitoïdes, la compétition extrinsèque fait référence à la compétition entre les adultes qui cherchent à optimiser leurs gains instantanés de valeur adaptative par l'exploitation d'hôtes. Il y a deux formes principales de compétition extrinsèque : directe et indirecte.

La compétition directe opère lorsque deux femelles tentent simultanément d'accaparer la même ressource, par exemple un agrégat d'hôtes (Boivin et Brodeur, 2006). Cette compétition peut se faire par interférence (« *contest competition* »), par exemple quand une femelle défend physiquement l'agrégat d'hôtes qu'elle exploite (Godfray, 1994; Field et Calbert, 1999; Stokkebo et Hardy, 2000; Goubault et al., 2005) ou encore par exploitation (« *scramble competition* »), quand deux femelles exploitent simultanément le même agrégat d'hôtes, les hôtes sains devenant de plus en plus rares (Sjerps et Haccou, 1994; Robert et al., 2016).

La compétition indirecte s'observe lorsque deux femelles exploitent la même ressource alternativement (Boivin et Brodeur, 2006). Elle s'exprime par l'entremise de signaux

chimiques laissés sur l'agrégat d'hôtes par la première femelle (Godfray, 1994), ou simplement par le fait que les hôtes de l'agrégat soient déjà parasités. Cette compétition peut pousser la femelle trouvant un agrégat déjà parasité à exprimer des comportements adaptés à ce type de situation (Boivin et Brodeur, 2006), tels que l'allocation différente des sexes (Hamilton, 1967; Waage et Lane, 1984; Luck et al., 2001; Martel et Boivin, 2004), le changement de taille de la couvée chez les espèces grégaires (Waage et Ming, 1984), le départ plus ou moins rapide de l'agrégat (Goubault et al., 2005; Barette et al., 2010; Robert et al., 2016) ou le superparasitisme (van Alphen et Visser, 1990; Speirs et al., 1991; Harvey et al., 2013).

1.4.3 Compétition intrinsèque

Chez les parasitoïdes, la compétition intrinsèque fait référence à la compétition directe entre deux (ou plusieurs) immatures à l'intérieur d'un hôte. Elle peut aussi prendre la forme de compétition par interférence ou de compétition par exploitation (Brodeur et Boivin, 2004).

La compétition par interférence concerne principalement les parasitoïdes solitaires et implique généralement une compétition agressive entre les immatures afin d'accaparer les ressources. On retrouve par exemple des formes immatures qui combattent afin d'éliminer leurs compétiteurs (Vinson et Iwantsch, 1980; van Baaren et al., 1999; Cusumano et al., 2012; Harvey et al., 2013), des formes larvaires spécialisées ayant pour fonction de protéger les individus apparentés (Brodeur et Boivin, 2004), ainsi que des formes peu agressives où les immatures produisent des composés (toxines) afin d'empêcher le développement de leurs compétiteurs (Vinson et Iwantsch, 1980; Cusumano et al., 2012; Harvey et al., 2013).

La compétition par exploitation est quant à elle non-agressive. Les immatures accaparent les ressources disponibles le plus rapidement possible et au détriment de leurs compétiteurs. Les espèces grégaires subissent généralement ce genre de compétition, car elles doivent partager les ressources de l'hôte (Klomp et Teerink, 1978; Brodeur et Boivin, 2004; Boivin et Brodeur, 2006). Des ressources abondantes permettent le développement de plusieurs individus dans l'hôte. Au contraire, lorsqu'elles sont limitées, les individus

manquant de ressources n'atteignent pas la maturité (Klomp et Teerink, 1978; Cónsoli et al., 2000; Boivin et Brodeur, 2006; Magdaraog et al., 2012).

1.4.4 Superparasitisme

1.4.4.1 Notions générales

Chez les parasitoïdes, il arrive qu'une femelle pondre dans un hôte déjà parasité par une autre femelle. Ce type de parasitisme se décline en multiparasitisme, lorsqu'il s'agit de femelles d'espèces différentes et en superparasitisme, lorsqu'il s'agit de femelles de la même espèce. Le superparasitisme peut être polygyne (entre femelles différentes) ou monogyne (parasitisme multiple par la même femelle sur le même hôte) (Godfray, 1994).

Le superparasitisme a d'abord été considéré comme une erreur comportementale (van Alphen et Visser, 1990), particulièrement chez les espèces solitaires, un grand nombre d'auteurs estimant qu'il ne pouvait profiter aux femelles parasitoïdes (Salt, 1934; Bragg, 1974; van Lenteren, 1975; Vinson, 1976; van Lenteren, 1981; Bakker et al., 1985). Plusieurs arguments appuient ce raisonnement. Les probabilités de survie d'une larve déposée dans un œuf déjà parasité sont généralement basses (van Dijken et Waage, 1987; van Baaren et al., 1995a) et le superparasitisme provoque une diminution de la valeur adaptative des individus (Harvey et al., 2013), un phénomène amplifié chez les espèces idiobiontes où les ressources sont limitées au contenu de l'hôte au moment de la ponte (Boivin et Martel, 2012).

Le superparasitisme s'observe pourtant fréquemment (Salt, 1934; Salt, 1961; van Dijken et Waage, 1987; Speirs et al., 1991). On le provoque couramment en laboratoire et, même si les études sont moins nombreuses, on l'observe souvent en conditions naturelles (Tagawa, 2000; Dorn et Beckage, 2007; Montoya et al., 2013), ce qui suggère un rôle plus important qu'initialement proposé. Il est désormais accepté que le superparasitisme est adaptatif sous certaines conditions (van Dijken et Waage, 1987). Par exemple, l'occurrence du superparasitisme augmente lorsque la densité d'hôtes non parasités est faible ou que les agrégats d'hôtes sains sont rares dans l'habitat (van Alphen et Visser, 1990; Ahmad et al.,

2002; Boivin et Brodeur, 2006; Kraft et van Nouhuys, 2013). Le superparasitisme pourrait parfois être le résultat d'une décision stochastique sous des conditions ne favorisant pas habituellement son expression. L'évolution future de la qualité de l'habitat étant inconnue de l'individu, superparasitiser pourrait être le comportement optimal plutôt que chercher un hôte sain (Plantegenest et al., 2004). Toutefois, le superparasitisme ne résulte pas de l'absence de discrimination de la qualité de l'hôte, car on observe des changements comportementaux marqués chez les femelles qui adoptent le superparasitisme (Brodeur et Boivin, 2004). Le comportement ne peut être avantageux que si la deuxième couvée a des probabilités de survie malgré l'ordre de ponte. Il permet aussi une optimisation de l'utilisation de l'hôte, car les femelles d'espèces grégaires utilisent parfois le superparasitisme monogyne afin d'ajuster la taille d'une première couvée pour maximiser le gain de valeur adaptative par hôte (Vinson et Iwantsch, 1980; Speirs et al., 1991; Boivin et Brodeur, 2006). La taille optimale de la couvée pour un hôte donné peut varier en fonction du rythme auquel la femelle découvre de nouveaux hôtes sains et du niveau de parasitisme qu'elle rencontre ce faisant (van Dijken et Waage, 1987).

1.4.4.2 Hyperparasitisme

L'hyperparasitisme concerne les cas où une femelle parasitoïde pond ses œufs dans un parasitoïde immature (Godfray, 1994; Sullivan and Völkl, 1999). Il s'agit la plupart du temps d'une interaction interspécifique, mais l'hyperparasitisme intraspécifique s'observe chez les Mymaridae (van Baaren et al., 1995a) et les Bethylidae (Pérez-Lachaud et al., 2004). Il existe aussi une forme appelée autoparasitisme qu'on retrouve chez les Aphelinidae et qui consiste pour la femelle à parasiter ses propres larves. Les mâles de ces espèces se développent généralement en tant qu'hyperparasitoïdes des larves femelles de la même espèce (Briggs et Collier, 2001). L'hyperparasitisme peut être obligatoire lorsque le parasitoïde se développe strictement dans un parasitoïde ou facultatif s'il peut se développer soit dans un parasitoïde ou directement dans un hôte (Boivin et Brodeur, 2006).

1.4.4.3 Effet du délai entre les pontes

La majorité des études qui ont évalué les probabilités de survie d'une seconde couvée lors du superparasitisme ont conclu qu'elles sont faibles et décroissent à mesure que l'intervalle s'allonge entre les pontes (Harvey et al., 2013). Un des premiers cas documentés est celui de *Bracon hebetor* (Hymenoptera : Braconidae), un ectoparasitoïde facultativement grégaire de larves de lépidoptères. Strand et Godfray (1989) ont montré que la probabilité de survivre de la deuxième couvée est d'environ 50% au temps zéro et diminue rapidement à mesure que le temps s'écoule entre les pontes. Un patron similaire s'observe chez de nombreuses espèces dont *Metaphycus flavus* (Hymenoptera : Encyrtidae) un endoparasitoïde facultativement grégaire de Coccidae (Tena et al., 2008), *Leptopilina heterotoma* (Hymenoptera : Figitidae) un endoparasitoïde solitaire des larves de drosophiles (Visser et al., 1992), *Camponotus sonorensis* (Hymenoptera : Ichneumonidae) un endoparasitoïde solitaire de larves de lépidoptères (Vinson et Hegazi, 1998) et *Laelius pedatus* (Hymenoptera: Bethyliidae) un ectoparasitoïde facultativement grégaire de larves de dermestes (Mayhew, 1997). Chez ces espèces, les larves plus âgées de la première couvée sont plus compétitives que celles des couvées subséquentes, mais les stratégies pour accaparer les ressources diffèrent d'une espèce à l'autre.

Il existe des exceptions où les couvées subséquentes sont avantagées avec l'augmentation du délai entre les pontes lors du superparasitisme, la plupart en situation de compétition par interférence. C'est le cas par exemple chez *Anaphes victus* (Hymenoptera : Mymaridae), un parasitoïde solitaire des œufs de charançons (van Baaren et al., 1995a). Durant les 48 premières heures, la larve mymariforme de la première couvée (mobile et dotée de mandibules développées) arrive à défendre l'hôte contre les couvées subséquentes. Après trois jours, ayant atteint le stade sacciforme, elle n'a plus la capacité de combattre et les larves plus jeunes peuvent la détruire et remporter la compétition. Finalement, *A. victus* est également un hyperparasitoïde facultatif intraspécifique et ses probabilités de remporter la compétition augmentent d'avantage après cinq jours, lorsque la première couvée a atteint le stade pré-pupal. D'autres cas rapportés n'impliquent pas la compétition directement, mais plutôt la réponse

immunitaire de l'hôte et l'encapsulation de la première couvée qui permet à la seconde de survivre par épuisement de la capacité d'encapsulation de l'hôte (Luna et al., 2016).

La littérature démontre amplement la capacité des femelles parasitoïdes à discriminer un hôte sain d'un hôte parasité (Vinson and Iwantsch, 1980; Mackauer, 1990; Nufio and Papaj, 2001). Toutefois, les femelles arrivent rarement à discerner les hôtes qu'elles ont elles-mêmes parasités de ceux parasités par des femelles de même espèce (van Dijken et Waage, 1987; Mackauer, 1990; Outreman et al., 2001; Tena et al., 2008). Chez les trichogrammes, malgré la présence de signaux chimiques déposés lors de la ponte, les femelles sont souvent incapables de faire cette distinction (van Dijken & Waage, 1987). Elles semblent aussi devoir acquérir la capacité à discriminer les hôtes parasités des hôtes non parasités par l'expérience (Robert et al., 2016). Finalement, peu d'études ont porté sur la capacité des femelles parasitoïdes à percevoir le temps écoulé entre les pontes ou, indirectement, à estimer l'âge de la première couvée. Chez *A. victus*, van Baaren et al. (1995a) ont déterminé que la femelle peut percevoir l'âge de la première couvée et changer son comportement de ponte conséquemment. Bien que les probabilités de la deuxième couvée de remporter la compétition augmentent avec le délai entre les pontes, les femelles sont de moins en moins disposées à pondre à cause de la diminution marquée de la valeur adaptative des individus qui survivent.

1.4.4.4 Effet du superparasitisme sur la valeur adaptative

Chez les parasitoïdes, la valeur adaptative dépend avant tout de la qualité de l'hôte (espèce, taille, âge, sexe, état nutritionnel, etc.) (Brodeur et Boivin, 2004; Dorn et Beckage, 2007; Boivin, 2010; Boivin et Martel, 2012). La compétition influence aussi grandement la valeur adaptative et le superparasitisme modifie les gains de valeur adaptative de la mère et de sa progéniture, généralement de façon contraire. En effet, bonifier sa fécondité réalisée en produisant plus de descendants par hôte aura un impact positif sur les gains de valeur adaptative de la femelle qui pond (Roitberg et al., 2001), mais ceux de sa progéniture peuvent être affectés négativement par la compétition dans l'hôte (Charnov et Skinner, 1984; Speirs et al., 1991; Tena et al., 2008), menant par exemple à une diminution de la taille des individus ou du nombre de gamètes produits par ceux-ci (Mackauer et Chau, 2001; Boivin et Martel, 2012). Cette disparité entre l'intérêt de l'adulte et de l'immature réfère au conflit générationnel

(«*parent-offspring conflict*») (Trivers, 1974). Néanmoins, bien que la valeur adaptative individuelle d'un immature peut diminuer avec le superparasitisme, la valeur adaptative cumulée de tous les individus exploitant l'hôte peut être plus grande (Brodeur et Boivin, 2004).

Lors du superparasitisme, on distingue trois types d'effet sur la valeur adaptative de la progéniture :

- 1) Aucun gain : Lorsque le superparasitisme ne permet pas à la nouvelle couvée d'atteindre la maturité et qu'elle meurt en cours de développement.
- 2) Effet négatif : Chez les espèces grégaires ou facultativement grégaires, lorsqu'une femelle parasitoïde fait augmenter le nombre d'immatures dans un hôte, leur taille diminue. La taille est négativement corrélée au nombre d'individus exploitant l'hôte (Grenier et al., 2001; Ahmad et al., 2002; Dorn et Beckage, 2007). Bien qu'il existe des exceptions (p. ex. voir Silva-Torres et al., 2009), il y a souvent une corrélation positive entre la taille des individus et la valeur adaptative, notamment chez les trichogrammes (Boivin, 2010a). En général, le superparasitisme produit des individus dont la valeur adaptative est diminuée par rapport aux parasitoïdes s'étant développés seuls.
- 3) Effet positif ou neutre : Le superparasitisme s'accompagne parfois de comportements permettant d'augmenter drastiquement les probabilités de survie de la couvée déposée dans l'hôte (Collier et al., 2007; Tena et al., 2008). Parmi ces moyens, on compte l'hyperparasitisme (van Baaren et al., 1995a) et l'infanticide (décrit plus loin), deux comportements qui visent à éliminer les couvées déjà présentes dans l'hôte. Un hôte dont on élimine les parasitoïdes pourrait être d'aussi bonne qualité qu'un hôte sain et n'imposer aucune perte de valeur adaptative aux nouvelles couvées déposées (Tena et al., 2008). De plus, l'évitement de l'encapsulation grâce au superparasitisme favorise la survie des couvées plus tardives et leur octroie une valeur adaptative supérieure à celle des premières couvées, encapsulées et détruites (Tena et al., 2008; Luna et al., 2016).

1.4.4.5 Effet du superparasitisme sur le temps de développement des immatures

Le temps de développement est un important descripteur de la valeur adaptative (Doyon et Boivin, 2005). La plasticité du temps de développement des immatures chez les endoparasitoïdes est connue chez plusieurs espèces (Dorn et Beckage, 2007). Chez *Cotesia congregata* (Hymenoptera : Braconidae) et *Apanteles congregatus* (Hymenoptera : Braconidae), deux espèces endoparasitoïdes grégaires de larves de lépidoptère, la taille de la couvée diminue le temps de développement (Beckage et Riddiford, 1978; Beckage et Riddiford, 1983). Doyon et Boivin (2005) ont démontré que les femelles *T. euproctidis* émergeant plus tôt sont avantagées entre autres par une augmentation de leur fécondité. Le partage des ressources entre plusieurs immatures pourrait causer une accélération du développement (Harvey et al., 2013). Peu d'études se sont intéressées à la plasticité du développement chez les parasitoïdes des œufs et encore moins en situation de superparasitisme. Tena et al. (2008) ont observé une accélération du développement lors du superparasitisme chez *M. flavus*, ainsi qu'une diminution de la taille des individus.

1.4.5 Stratégies de compétition des parasitoïdes

1.4.5.1 Stratégies employées par l'adulte

L'infanticide constitue une première stratégie utilisée par les femelles parasitoïdes pour permettre à leurs larves de remporter la compétition. Ce comportement consiste pour une femelle à tuer les immatures déjà présents dans un hôte avant d'y déposer une nouvelle couvée (Strand, 1986; Netting et Hunter, 2000; Goubault et al., 2004). L'infanticide cible habituellement la progéniture d'une compétitrice, mais une femelle peut aussi poser ce geste sur sa propre progéniture, par erreur ou à dessein (Tena et al., 2008). Selon Strand et Godfray (1989), pour que l'infanticide soit sélectionné chez une espèce il faut que la première ponte ait un avantage compétitif sur les subséquentes, que la ressource hôte soit rare, que le temps requis pour éliminer la progéniture des compétitrices soit court et finalement que la probabilité d'éliminer sa propre progéniture soit faible.

Pour détecter et détruire une couvée, la femelle doit investir du temps, ce qui fait potentiellement diminuer son taux de gain de valeur adaptative. Toutefois, éliminer la couvée d'une compétitrice améliore aussi la qualité de l'hôte et ce comportement peut être optimal lorsque les hôtes sains sont rares (Mayhew, 1997). Des effets positifs de l'infanticide sur la valeur adaptative de la progéniture ont été rapportés chez *Goniozus jacintae* (Hymenoptera : Bethyridae), un ectoparasitoïde grégaire de larve de lépidoptère. Hopper et Mills (2015) ont montré que l'infanticide chez cette espèce procurait aux larves de la deuxième couvée un meilleur taux de survie et une taille plus importante que les larves s'étant développées en absence de superparasitisme, résultant possiblement de l'augmentation de la concentration des lipides et des protéines dans l'hôte parasité.

L'infanticide peut être classé en deux catégories : l'infanticide mécanique et l'infanticide chimique. La première catégorie s'observe surtout chez les ectoparasitoïdes (Strand et Godfray, 1989; Netting et Hunter, 2000), mais aussi chez quelques endoparasitoïdes (Netting et Hunter, 2000; Tena et al., 2008). Chez ces derniers, lorsque la femelle perçoit la présence d'immatures dans l'hôte, elle insère son ovipositeur de façon agressive à plusieurs reprises pour les poignarder. Elle peut aussi faire tourbillonner son ovipositeur vigoureusement pour arriver aux mêmes fins. Lors de l'hyperparasitisme chez *Anaphes victus*, la femelle perfore d'abord la larve à plusieurs reprises avant d'y pondre (van Baaren et al., 1995a). *Encarsia formosa* et *Encarsia luteola* (Hymenoptera : Aphelinidae), deux endoparasitoïdes d'aleurodes, sont capables de perforer les œufs d'une autre femelle dès les premières heures suivant la ponte (Arakawa, 1987; Netting et Hunter, 2000). *Pleolophus indistinctus* (Hymenoptera : Ichneumonidae), un endoparasitoïde de larves de diptères, insère son ovipositeur par un site de ponte déjà existant pour poignarder les œufs présents dans l'hôte (Price, 1970). *Metaphycus flavus* peut tuer mécaniquement les œufs et les larves de ses compétitrices, qu'il détecte grâce à des indices visuels sur le corps de l'hôte (Tena et al., 2008). On observe le même phénomène chez *Ooencyrtus nezarae* (Hymenoptera : Encyrtidae) (Takasu et Hirose, 1988).

L'infanticide chimique est moins bien documenté, car il se détecte plus difficilement et la plupart des cas demeurent équivoques. Les parasitoïdes adultes injectent fréquemment des

substances chimiques lors de la ponte, lesquelles influencent les interactions parasitoïdes-hôtes (Reed et al., 2007; Asgari et Rivers, 2011). Parmi ces composés, on trouve des venins dont les structures chimiques sont proches des molécules endogènes physiologiques normalement présentes chez les hôtes (Vinson et Hegazi, 1998; Asgari et Rivers, 2011). Certaines de ces substances pourraient jouer un rôle dans la compétition entre les couvées (Harvey et al., 2013). Ainsi, la présence de venin infanticide a été suggérée chez plusieurs endoparasitoïdes. Chez *B. hebetor*, le venin utilisé pour tuer l'hôte arrête aussi le développement des larves de *Nemeritis canescens* (Hymenoptera : Ichneumonidae) (Petters et Stefanelli, 1983). Mandour et al. (2008) ont montré que *T. evanescens* a toujours l'avantage sur *Copidosoma desantisi* (Hymenoptera : Encyrtidae) lorsqu'ils parasitent le même hôte, peu importe l'ordre de ponte. Comme aucun signe d'ovicide mécanique n'a été observé sur les œufs de *C. desantisi*, l'usage d'un venin ovicide a été suggéré sans être confirmé. Mackauer (1990) a montré que le développement d'œufs d'*Aphidius smithi* (Hymenoptera : Braconidae) âgés de moins de 5 h s'arrête après qu'*Ephedrus californicus* (Hymenoptera : Braconidae) ait perforé l'hôte et inséré son ovipositeur sans toutefois pondre, suggérant une fois de plus l'effet d'un venin. *Ooencyrtus nezarae* utiliserait possiblement aussi un venin ovicide pour éliminer les larves compétitrices (Takasu et Hirose, 1988). Ces exemples concernent tous le multiparasitisme et aucun exemple n'existe à ma connaissance d'un venin infanticide ayant un effet intraspécifique. Un tel venin comporterait probablement aussi des risques pour la couvée de la femelle parasitoïde en faisant usage.

Une deuxième stratégie pour contrer les immatures compétiteurs et limiter les coûts liés au superparasitisme consiste à choisir un sexe particulier pour sa progéniture. Les femelles parasitoïdes ont cette capacité et procèdent à l'allocation des sexes de façon non aléatoire (Wajnberg, 1993; Martel et Boivin, 2004). Chez certaines espèces grégaires, les mâles ont un avantage compétitif sur les femelles, car ils se développent plus rapidement et nécessitent moins de ressources (Waage, 1986). C'est le cas des mâles *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) qui survivent mieux que les femelles en cas de superparasitisme (Suzuki et al., 1984). Luck et al. (2001) ont montré chez *T. pretiosum* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) qu'une troisième ponte dans le même œuf (superparasitisme polygyne) augmente les probabilités qu'un mâle soit pondu, en réponse à la

diminution des ressources disponibles. Au contraire, les femelles sont supérieures aux mâles en compétition intrinsèque chez *T. evanescens*, leur taux de mortalité étant plus faible que celui des mâles lors du superparasitisme (van Dijken et Waage, 1987). Chez *A. victus*, les immatures femelles sont aussi de meilleures compétitrices, possiblement grâce à leurs soies plus nombreuses qui les rendent mobiles et plus efficaces au combat que les mâles (van Baaren et al., 1999).

1.4.5.2 Stratégies employées par l'immature

L'attaque physique constitue chez les larves de parasitoïdes une première stratégie de lutte. Observée surtout chez les espèces solitaires (Vinson et Iwantsch, 1980; Vinson et Hegazi, 1998), elle requiert généralement un stade larvaire mobile, doté de soies ou d'un appendice caudal permettant le mouvement, et la présence de mandibules adaptées au combat. Chez plusieurs espèces solitaires comme *A. victus* (van Baaren et al., 1997), on trouve des larves de premier stade (L1) dites soldates qui possèdent ces caractéristiques. Bien que chez la plupart des espèces grégaires les larves soient peu mobiles et ne possèdent pas ces adaptations (Boivin et van Baaren, 2000; Magdaraog et al., 2012), certaines de ces espèces sont dotées de mandibules bien développées. Magdaraog et al. (2012) ont montré que deux espèces du genre *Cotesia* (Hymenoptera : Braconidae) en sont munies au stade L1 et ont émis l'hypothèse qu'elles pourraient servir à combattre des larves compétitrices en situation de multiparasitisme. En revanche, *Aphaereta pallipes* (Hymenoptera : Braconidae), une autre espèce grégaire, en est également dotée sans avoir de comportement agressif (Mayhew et van Alphen, 1999). Les larves d'*Anaphes listronoti* (Hymenoptera : Mymaridae) sont facultativement grégaires et capables de se défendre en cas d'agression, mais elles sont peu mobiles et combattent rarement entre elles (van Baaren et al., 1997; Boivin et van Baaren, 2000). Chez *Trichogramma carverae* (Hymenoptera : Trichogrammatidae), un parasitoïde facultativement grégaire, les larves sont capables de tuer leurs congénères et d'en absorber le contenu (Heslin et Merritt, 2005). Il a été proposé que la présence de mandibules aptes à servir de moyen d'attaque chez les espèces grégaires serait en fait un vestige de l'évolution des espèces solitaires vers la grégarité (Salt, 1961; Godfray, 1987; van Baaren et al., 1997; Boivin et van Baaren, 2000).

L'accaparement des ressources en nutriments ou en oxygène représente une deuxième stratégie employée par les immatures pour remporter la compétition (Brodeur et Boivin, 2004; Harvey et al., 2013). La compétition par exploitation est le type de compétition prédominant chez les espèces grégaires, bien qu'il ne mène pas automatiquement à la mort. Chez *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera : Pteromalidae), une espèce grégaire, le superparasitisme rend parfois les larves trop nombreuses dans l'hôte et provoque la mort de certaines par famine (Wylie, 1965). Le taux rapide de développement de *T. pretiosum* lui permet de vaincre systématiquement *C. floridanum* en accaparant les ressources de l'hôte (Yamamoto et al., 2007). Le même phénomène a été observé lorsque *T. pretiosum* pond avec une avance d'au moins six heures sur *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera : Scelionidae) (Cusumano et al., 2012). Lorsque la larve de *Nemeritis canescens* (Hymenoptera : Ichneumonidae) atteint le deuxième stade larvaire (L2), sa consommation d'oxygène augmente drastiquement, ce qui réduit l'oxygène disponible dans l'hôte et provoque la mort des œufs et larves n'ayant pas encore atteint ce stade (Fisher, 1963).

La troisième stratégie de lutte chez les immatures est de nature physico-chimique. La source et la nature des composés demeurent méconnues. Ces composés peuvent provenir de la femelle lors de la ponte, de la larve (Vinson et Iwantsch, 1980), de cellules associées à l'embryon (Vinson et Hegazi, 1998) ou de l'hôte en réaction à l'éclosion des larves de parasitoïdes (Vinson et Hegazi, 1998). Chez plusieurs espèces de braconidés, de grandes cellules appelées tératocytes sont libérées dans l'hémocèle au moment de l'éclosion. Elles jouent un rôle dans la régulation du développement de l'hôte, dans la lyse de ses tissus (Pennacchio et Strand, 2006), dans les mécanismes d'évitement de la réponse immunitaire de l'hôte (Strand, 2014) et peuvent interférer avec le développement des compétiteurs (Harvey et al., 2013). C'est le cas chez *T. heliothidis* où la sécrétion de composés cytolytiques associés aux tératocytes peut détruire les œufs de *T. pretiosum* (Cusumano et al., 2012). Le genre *Trichogramma* ne produit pas de tératocytes, mais plutôt des cellules sphériques issues de l'exuvie embryonnaire qui semblent jouer un rôle dans la digestion de l'hôte (Boivin, 2010b). Les larves de *C. floridanum* émettent des protéines toxiques pour les larves de *Microplitis demolitor* (Hymenoptera : Braconidae) et de *Glyptapanteles pallipes* (Hymenoptera : Braconidae) leur conférant un avantage marqué sur ces compétiteurs (Strand et al., 1990; Uka

et al., 2006). Lors du superparasitisme chez *C. sonorensis*, la variation du contenu protéique de l'hémolymphe de l'hôte qui survient après l'éclosion des larves du parasitoïde change la pression osmotique de l'hôte et crée un environnement défavorable au développement des jeunes embryons (Vinson et Hegazi, 1998). L'absence de membrane embryonnaire permet la diffusion passive entre l'œuf de parasitoïde et son environnement.

Chapitre 2 : Impact of superparasitism time intervals on progeny survival and fitness of an egg parasitoid

Jean-François Duval, Jacques Brodeur, Josée Doyon, Guy Boivin

Soumis à *Ecological Entomology*

Impact of superparasitism time intervals on progeny survival and fitness of an egg parasitoid

Jean-François Duval^{1,2}, Jacques Brodeur¹, Josée Doyon¹, Guy Boivin²

¹Department of biological sciences, Institut de Recherche en Biologie Végétale, Université de Montréal, 4101 Sherbrooke Est, Montréal, QC, Canada, H1X 2B2

²St-Jean-sur-Richelieu Research and Development Center, Agriculture and Agri-Food Canada, 430 boul. Gouin, St-Jean-sur-Richelieu, QC, Canada J3B 3E6

Corresponding author:

Jean-François Duval

Université de Montréal

Institut de Recherche en Biologie Végétale

4101 Sherbrooke Est

Montréal, Québec

H1X 2B2 Canada

Tel : +1 514 343 6111 x 82548

Email : jean-francois.duval.3@umontreal.ca

Running title: Impact of superparasitism time intervals

Abstract

In insect parasitoids, superparasitism influences the fitness of both the female and her progeny, and increasing time interval between two oviposition bouts generally reduces survival probabilities of the second clutch. However, this pattern is not exclusive and timing of superparasitism may under certain conditions favour the second clutch. To examine the effects of superparasitism time intervals on survival and fitness (parasitoid size) of both clutches, we allowed the egg parasitoid *Trichogramma euproctidis* to parasitize previously parasitized *Ephestia kuehniella* host eggs at different time intervals. In short intervals (0-1 h), we found a significant advantage for the second clutch over the first clutch, with over 90% survival. In contrast, the second clutch was outcompeted by the first clutch in 17-19 h and 27-29 h intervals. When the hosts contained larvae (39-41 h), females deposited their eggs into the larvae (intraspecific hyperparasitism) with a probability of survival of ~57%. When the hosts contained pupae (124-126 h), females mostly refused to hyperparasitize (~80% rejection), and when they did, their progeny never survived. Hyperparasitism significantly increased parasitoid mortality in both clutches from less than 20% (superparasitism only) to over 35%. Except on newly laid eggs (0-1 h), superparasiting females were frequently observed attempting to stab immatures of all stages (from 36.4% to 89.4% of all ovipositions depending on treatment), but infanticide only succeeded on larvae (39-41 h). Finally, in treatments where the second clutch survived, the emerging parasitoids were smaller than the control individuals, probably due to resource depletion. These results suggest that *T. euproctidis* females can detect that a host has been previously parasitized but they cannot perceive superparasitism time intervals.

KEY WORDS : Oviposition time intervals; Facultative intraspecific hyperparasitism; Scramble competition; Infanticide; Host discrimination; *Trichogramma*.

Introduction

Fitness is a key concept in behavioural ecology. Defined as the success of an individual to transmit his genes to the next generation (Bolhuis and Giraldeau, 2005), fitness is often measured through proxies such as body size, longevity and fecundity (Jakob et al., 1996; Roitberg et al., 2001). Individuals are expected to express behaviours that optimize their gain of fitness per unit of time (Stephens and Krebs, 1986) and they should have a preference for high quality resources and habitat. However, competition for resources is omnipresent in nature, influencing the fitness gains of individuals and increasing selective pressure on them (Maynard-Smith, 1974).

Individuals compete for resources either by contest competition, when an individual monopolizes a resource through direct interactions (e.g., fights), or by scramble competition, when a race arises for the acquisition of shared resources (Nicholson, 1954; Milinski and Parker, 1991). Competition stands generally as a mutually negative interaction that yields reduced gains of fitness for the protagonists and their offspring (Brockelman, 1975; Morin, 2011).

Insect parasitoids can be involved in either contest or scramble competition (Brodeur and Boivin, 2004) and are useful models to measure the effects of competition on both females and their progeny. For females, fitness is directly affected by competition for hosts and the number of eggs laid. Hosts remain in the environment after being parasitized and can be exploited by other females thereby creating competition between clutches (Boivin and Brodeur, 2006). This condition is called multiparasitism when females of different species exploit the same host or superparasitism when involving conspecific females (Godfray, 1994). Parasitized hosts can also be exploited by hyperparasitoids that lay their eggs in the larvae or pupae of primary parasitoids (Sullivan and Völkl, 1999). For solitary parasitoids, each host can produce only one adult. For gregarious or semi-gregarious parasitoids, hosts are shared and the quality and quantity of resources per host determine the number of immature parasitoids that can successfully develop (Godfray, 1994).

Survival probabilities of a clutch deposited in an already parasitized host are generally low (van Dijken and Waage, 1987; Harvey et al., 2013). However, superparasitism can be

adaptive under certain ecological circumstances (van Alphen et Visser, 1990). Superparasitism is more likely to occur when host density is low or parasitoid to host ratio is high (Visser et al., 1990; Ahmad et al., 2002). Female's life expectancy and egg load can also modulate superparasitism rate (van Dijken et Waage, 1987; Boivin and Brodeur, 2006). Solitary parasitoids can self-superparasitize in order to outnumber their competitor's clutch, thereby increasing survival probabilities of their progeny (van Alphen and Visser, 1990). Females of gregarious species can superparasitize to adjust their clutch size and maximize their fitness gain per host (van Dijken et Waage, 1987; van Alphen and Visser, 1990), but it generally results in smaller offspring (Grenier et al., 2001; Ahmad et al., 2002; Dorn and Beckage, 2007). Exceeding the carrying capacity of the host eventually leads to starvation of some of the larvae (Boivin and Brodeur, 2006).

Survival of the second clutch under superparasitism conditions has been shown to be time dependent (Harvey et al., 2013). The first clutch almost always outcompetes subsequent clutches and its probability of winning competition increase with the time interval between ovipositions (Strand and Godfray, 1989; Visser et al., 1992; Mayhew, 1997; Tena et al., 2008; Harvey et al., 2013). However, this pattern is not exclusive and timing of superparasitism may under certain conditions favour the second clutch. In the solitary egg parasitoid *Anaphes victus*, the first instar mymariform larva roams the host to kill any other immatures, but the second instar larva is sacciform and unable to fight. Therefore, if a host egg is superparasitized when the first clutch has reached the sacciform stage, survival probabilities of the second clutch are high (van Baaren et al., 1995). Nonetheless, fitness of progeny can be impacted when developing in a previously parasitized host (Harvey et al., 2013).

The negative effects of superparasitism on the fitness of progeny have been largely documented in parasitoids (van Dijken and Waage, 1987; van Alphen and Visser, 1990; Sousa and Spence, 2000; Boivin, 2010a ; Harvey et al., 2013), generally consisting of a reduction in body size, longevity or reproductive capacity. To cope with these detrimental effects, females can perform infanticide (i.e., eliminate completely or partially a competitor's clutch before laying their own, either by mechanical or chemical means). Such behaviour has been reported in many parasitoids (Strand and Godfray, 1989; Netting and Hunter, 2000; Tena et al., 2008) and more likely occurs when the first clutch has a higher probability of survival than

subsequent clutches (Strand and Godfray, 1989). Infanticide can thus turn a low quality parasitized host into a more suitable host for the second clutch (Mayhew, 1997; Tena et al., 2008).

In this study, we measured the impact of superparasitism time intervals on egg parasitoids, which are idiobionts and thus exploit a finite amount of resources (Boivin, 2010b). We examined the survival and fitness of progeny in *Trichogramma euproctidis* when superparasitizing *Ephestia kuehniella* host eggs. Durocher-Granger (2011) reported an unexpected advantage of the second clutch over the first clutch for short superparasitism time intervals in this system, but the mechanism allowing the second clutch to win the competition and consequences to the parasitoid progeny remain unknown.

Material and Methods

Biological model

Most *Trichogramma* species are facultative gregarious (i.e., one or several larva can develop per host). At oviposition, the hymenopteriform eggs measure 100-140 μm in length and 30-50 μm in width, and float freely in the host egg. Females are arrhenotokous and lay only male eggs when virgin. Larvae are vermiform with reduced mandibles and low mobility (Boivin, 2010b). Many species are known to multi/superparasitize and some species are facultative hyperparasitoids (Strand et Vinson, 1984).

In this study, we used two isofemale lines of an Egyptian strain of *Trichogramma euproctidis* Girault (Genbank accession number HM116410). The lines are referred to as A5 and C14 and can be differentiated at the molecular level using a single RAPD marker. Both lines are identical in terms of body measurements, behavior or fecundity. Parasitoid colonies are reared on cold-killed *Ephestia kuehniella* Zeller eggs at 24°C, L:D 16:8 h. The development cycle lasts 10 days under these conditions (Doyon and Boivin, 2005). The embryo develops in 32-34 h (J.-F. Duval, unpublished data). Following hatching, the larva consumes host tissues in about eight hours (Jarjees and Merritt, 2002) and matures until the fourth day. It then releases its meconium, causing the parasitized host to turn black. Pupa completes development within six days and the adult emerges on the 10th day at the beginning

of the photoperiod (Doyon and Boivin, 2005). *Ephestia kuehniella* host eggs were chosen because they support the development of only one *Trichogramma* embryo (rarely two).

Experimental protocol

Prior to each experiment, *T. euproctidis* females of both lines were isolated in 300- μ l Beem® polyethylene capsules (Ted Pella Inc., Redding, California) before emergence. Females used in experiments were unmated, unfed, naive and 0-24 h old. Live *E. kuehniella* host eggs were 0-36 h old when used.

Parasitized host eggs were obtained by placing a female from a first line (either A5 or C14, selected randomly for each test) on a host patch of nine *E. kuehniella* eggs on a filter paper in a 40X12 mm polystyrene Petri dish (3X3 grid). Oviposition was confirmed constant by visual observation. Parasitized hosts were collected and next transferred to a treatment patch of nine parasitized host eggs. When required (see treatments below), the parasitized host patch was incubated at 24°C, L:D 16:8 h. When the time interval of a given treatment was reached, a female of the second line was placed on the parasitized host patch. After the female had superparasitized a host, she was removed from the patch and replaced by a new one, repeating this process until patch depletion. Each superparasitized host was transferred to a 300- μ l Beem® polyethylene capsule for incubation at 24°C, L:D 16:8 h. Occurrence (yes or no) of infanticide attempts was also recorded, confirmed by the observation of stabbing or intense swirling of the females. After 10 days, superparasitized hosts were inspected daily for emergence and adults were frozen at -20°C. Survival of the second clutch was calculated by including only the samples where an adult emerged from the host and when its identity could be determined through molecular analyses. Parasitoid mortality refers to hosts that did not produce an adult parasitoid, regardless of superparasiting female's line.

Treatments were synchronized with the developmental stages of the first clutch: 0-1 h (T1; freshly laid egg), 17-19 h (T2; egg with embryo halfway through development), 27-29 h (T3; egg about to hatch), 39-41 h (T4; larva) and 124-126 h (T5; pupa). In T1, the females of the first line were allowed to parasitize hosts for 20 min then the parasitized hosts were superparasitized by the females of the second line for a maximum of 40 min. In all other treatments, females of the first line were allowed to parasitize hosts for one hour and following

incubation, the hosts were superparasitized by females of the second line for one hour. In T5, because females often refused to superparasitize the hosts (~80% rejection), we allowed each female to stay on the patch for a maximum of 10 min, or to reject up to 20 hosts before replacing them. Approximately 50 individuals were obtained and successfully identified to their line for each treatment.

Hind tibia measurement

Before DNA extraction, both hind tibiae of all emerged parasitoids were collected with sharp tweezers and placed on microscope slides. A picture was taken at 400X and tibia length was measured using the Image Pro Plus software (Media Cybernetics, USA). Mean hind tibiae length was calculated for each individual. Tibiae were not collected for T5 because the sample size was very small (n=5). Control individuals of both lines were obtained from hosts parasitized only once (n=32).

Molecular analyses

We used the protocol described in Martel et al. (2010) with slight modifications to discriminate between the two isofemale parasitoid lines.

DNA was extracted from each female by grounding them in 100 μl of 5% Chelex with 4 μl of proteinase K (20 mg ml⁻¹). The microtubes were heated at 56 °C for 30 min and next at 100 °C for 10 min. The samples were then vortexed for 5 s and centrifuged for 3 min. Fifty μl of the supernatant were transferred to sterile 1.5 μl tubes and kept frozen (-20 °C).

PCRs were performed using 2 μl of the extracted DNA, 1.15 μl of Qiagen PCR buffer (1X), 0.69 μl MgCl₂ (1.25 mM), 0.23 μl dNTPs (0.2 mM), 0.23 μl of the primer (0.2 μM), 0.173 μl Quiagen Taq DNA polymerase (0.075 units μl^{-1}) and 7.03 μl of sterile water, for a total of 11.5 μl per tube. The RAPD primer used was 5'-GGAATTCGG-3' (OPF-6 primer, Operon Technologies, Huntsville, Alabama).

The PCR programme first heated the DNA samples 3 min at 94 °C then repeated 40 cycles of 30 s at 94 °C, 30 s at 26 °C, and 1 min at 72 °C and ended with 10 min at 72°C. Electrophoresis was run on amplified DNA samples on 1.5% agarose gels at 100 V for 65 min. The gels were placed in 0.1% ethidium bromide for 10 min and then rinsed in distilled water

for 10 min. Photos of the gels were taken under UV light using Gene Snap software (Syngene, UK). The A5 line has a band at around 275 kb that is not present in the C14 line.

Statistical analyses

For each treatment, we analyzed the line and mean hind tibia lengths of emerging parasitoids, the percentage of repetitions where infanticide attempts were observed, the number of individuals emerging per host and parasitoid mortality (both lines pooled).

Proportion data on the survival of the second clutch, infanticide attempts and parasitoid mortality were analyzed using contingency tables (Fisher's exact test) followed by a post-hoc multiple comparison (pairwise test of independence). In each contingency table, categorical variables consisted of both parasitoid line and treatment, allowing us to confirm that parasitoid lines, although distinguishable with molecular analyses, did not differ significantly within treatments. The data of both lines were then pooled to obtain mean survival of the second clutch, mean occurrence of infanticide attempts and parasitoid mortality per treatment regardless of lines. An exact binomial test was used to compare mean survival of the second clutch in each treatment to a theoretical random probability of survival (50%). Mean hind tibia lengths were compared using a generalized linear model that included parasitoid line and treatment. A power transformation was applied to mean hind tibia lengths data to obtain normality of residues and equality of variances. A post-hoc multiple comparison test (Least-squares means) was used to contrast treatments. All statistical analyses were conducted using the R software (v.3.4.0).

Results

Both *T. euproctidis* lines showed similar survival rates in each treatment, except in T4 (39-41 h) (Fisher's exact test : $P = 0.00142$). Data of both lines were nonetheless pooled to analyze mean survival for this treatment, as no differences were found between lines anywhere else in this study.

Survival of the second clutch was significantly affected by superparasitism time intervals (Fisher's exact test : $P < 0.001$; Figure 1). The second clutch's probabilities to win competition were significantly different from random (50%) in T1 (0-1 h), T2 (17-19 h), T3

(27-29 h) and T5 (124-126 h) (Exact binomial test : P-value < 0.001), but not in T4 (P > 0.05). In T1 and T4, the second clutch survived in 93.1% and 57.1% of all cases, respectively. Survival of the second clutch was low in T2 and T3, reaching only 2.1% and 3.7% respectively. In T5, only 11 females superparasitized a host and only five attempts led to the emergence of an adult, always from the first clutch.

Parasitoid mortality significantly differed between treatments (Fisher's exact test : P < 0.01; Figure 2). When the first clutch was at the egg stage at the time of superparasitism (T1, T2 and T3), mortality was lower than 20% and did not differ between treatments (Pairwise test of independence : P > 0.05). In T4 and T5, parasitoid mortality did not differ between treatments (Pairwise test of independence: P > 0.05), but was significantly higher than in the other three treatments, reaching 54.5% in T5 (Pairwise test of independence : P < 0.05).

Infanticide attempts were significantly affected by superparasitism time intervals (Fisher's exact test : P < 0.01; Figure 3). While infanticide attempts were rarely observed in T1 (6.1%), females frequently attempted (> 85.0%) to kill the first clutch in T2, T3 and T4 and moderately (36.1%) in T5.

Parasitoid size was significantly influenced by superparasitism time intervals (Linear regression : $F_{(5,241)} = 8.585$; P < 0.001; Figure 4). In T2 and T3, parasitoid hind tibia length did not differ from control individuals (least-squares means : P > 0.05). However, in T1 and T4, individuals were 5.1% and 3.4% smaller than control individuals respectively (least-squares means : P < 0.001).

Discussion

In this study, we used the egg parasitoid *T. euproctidis* to examine the impact of time intervals between ovipositions (superparasitism) on survival of the second clutch and fitness of the progeny. We also quantified the occurrence of infanticidal behavior in superparasitizing females, and parasitoid mortality in both clutches. Time interval between ovipositions determined the outcome of competition in conditions of superparasitism. Our results indicate a clear advantage for the second clutch over the first clutch when females superparasitize hosts less than one hour after the first oviposition (see below). This pattern differs from most studies

where the first clutch was systematically more competitive than subsequent clutches following superparasitism, regardless of superparasitism time interval (Harvey et al., 2013). In 39-41 h intervals, because larvae of the first clutch had fully consumed hosts resources and were occupying most of the space inside them, we can assume that superparasitizing females laid their eggs in larvae of the first clutch (hyperparasitism). To our knowledge, Intraspecific hyperparasitism has been found only in Mymaridae (van Baaren et al., 1995) and Bethyilidae (Pérez-Lachaud et al., 2004), and this would be the first mention in a Trichogrammatidae.

Survival of the second clutch in short intervals

The second clutch won the competition in 93.1% of cases in short time intervals (0-1 h), but could not outcompete the first clutch later during embryonic development. In short time intervals, the winning parasitoid, either from the first or the second clutch, were 5.1% smaller than control individuals, and thus had an expected reduced fitness. Longer intervals (17-19 h and 27-29 h) allowed the first clutch to hatch prior to the second clutch and to monopolize all resources, with no size reduction being detected in emerging adults.

The immatures of facultative gregarious species such as *T. euproctidis* are expected to compete with other immature parasitoids in a scramble type competition (Boivin and Bordeur, 2006). Thus, two eggs deposited simultaneously in a resource-limited host should have equal probabilities to win the competition when larvae compete to secure enough resources to complete development, causing the other to die. In the present case, the advantage of the second clutch in T1 suggests the existence of another competition mechanism. We propose that survival of the second clutch in short intervals results from an acceleration of its development allowing it to secure resources faster than its competitor. Plasticity in parasitoid immature developmental rate has been shown in Cecidomyiidae (Muratori et al., 2010) and Braconidae (Gu et al., 2003), and in other organisms such as anurans, birds and turtles (Warkentin, 2011). Further investigation is required to determine if *T. euproctidis* embryos can perceive competition and accelerate their development accordingly, and if chemical compounds that are commonly injected in the hosts by ovipositing females (Asgari and Rivers, 2011) are involved in this mechanism.

Infanticide, host discrimination and survival of the second clutch

In most treatments, infanticide attempts do not explain the outcome of the competition between the two clutches. In short intervals (0-1 h), high survival of the second clutch was observed, but the second female attempted infanticide on the first clutch only 6.1% of the time. On the other hand, when eggs of the first clutch were older (17-19 h and 27-29 h), the occurrence of stabbing increased up to 89.4%, but the second clutch survived in less than 4% of all cases. Infanticide was only effective when the second females were exploiting hosts containing conspecific larvae (39-41 h). In this treatment, females attempted infanticide 85.0% of the time and the second clutch survived in 57.1% of the cases. Infanticide attempts were observed 36.4% of the time when the first clutch was at pupal stage (124-126 h), but the second clutch never survived. This pattern suggests that intraspecific infanticide is mostly inefficient in *T. euproctidis*. *Trichogramma* eggs are small and float freely in the host haemocoel (Boivin, 2010b), making them difficult to target. On the other hand, successful infanticide could be explained by the larger size and the low mobility of *T. euproctidis* larvae (Boivin, 2010b).

The readiness of *T. euproctidis* females to attempt infanticide regardless of their probabilities to succeed suggest that although they do discriminate parasitized hosts from healthy hosts, they may not be able to perceive the age of the first clutch. Literature remains unclear about the capacity of parasitoid females to determine the status of a clutch within a host. It was suggested that parasitoid females cannot discriminate hosts recently parasitized by conspecifics (Vinson and Iwantsch, 1980) and that they need to learn discrimination through experience (van Baaren and Boivin, 1998; Ardeh et al., 2005). Tested *T. euproctidis* females were naive, but markedly changed their oviposition behavior when superparasitizing (i.e., longer host inspection before oviposition, increased antennae drumming, multiple probing with ovipositor, etc.) an indication that they can detect parasitized hosts (Brodeur and Boivin, 2004). Infanticide might have primarily evolved to eliminate larger interspecific competitors that share the same ecological niche, and *Trichogramma* females could also be unable to discriminate the species of immatures within a host.

Intraspecific hyperparasitism

At least one species of *Trichogramma* (*T. pretiosum*) is known to be a facultative interspecific hyperparasitoid (Strand and Vinson, 1984), but facultative intraspecific hyperparasitism as we report for *T. euproctidis* (as opposed to autoparasitism found in Aphelinidae) has rarely been observed in parasitoids. Hyperparasitism is an efficient strategy to avoid dangerous life stages of competitor larvae (Brodeur, 2000). Contest competition in gregarious parasitoids is rare (Brodeur and Boivin, 2004), but can occur. Larvae of *Trichogramma carverae* were observed siphoning and eating conspecific larvae while actively feeding inside their host (Heslin and Merritt, 2005). Thus, facultative intraspecific hyperparasitism would be most adaptive in species that encounter high levels of superparasitism (van Baaren et al., 1995). Nonetheless, hyperparasitism can have negative impacts on the fitness of the progeny (Brodeur, 2000). Adult *T. euproctidis* of the second clutch were smaller than the control individuals after developing in a conspecific larva (39-41 h), the reduction in body size being probably a consequence of the depletion of host resources and the sclerotization of the first clutch's larva (Kfir and Rosen, 1981; van Baaren et al., 1995). Also, parasitoid mortality increased from less than 20% in hosts where superparasitism occurred (0-1 h, 17-19 h and 27-29 h) to 35.6% (39-40 h) and 54.5% (124-126 h) when females hyperparasitized the first clutch. The resulting increase in parasitoid-induced host death (i.e., the death of a host without parasitoid emergence) might be a consequence of both the mutilation of hosts by the females and the low host quality for parasitoid development (Abram et al., 2016).

Evolution of superparasitism in *Trichogramma*

In *T. euproctidis*, the advantage of the second clutch over the first clutch in short superparasitism time intervals in *T. euproctidis* was first observed by Durocher-Granger (2011). This pattern was also observed in two other *Trichogramma* species (*T. pinto* and *T. pretiosum*) in condition of multiparasitism (F.-A. Robert, personal communication). Thus, the competition-induced immature development acceleration might be a generalized trait of the genus. The small size of *Trichogramma* makes their dispersal difficult and strongly influenced by environmental factors (Fournier and Boivin, 2000), potentially creating conditions for high

levels of superparasitism on host patches in nature (Tagawa, 2000; Montoya et al., 2013). If *Trichogramma* females cannot perceive the age of their competitor's clutch and superparasitize readily as shown for *T. euproctidis*, this would create a strong selective pressure on individuals to evolve an effective mechanism allowing for the survival of the superparasitizing female's progeny. If, under the right conditions, superparasitism yields high survival of the progeny, superparasitizing the first host encountered becomes more profitable for *Trichogramma* females than searching for healthy hosts (Collier et al., 2007), as time spent travelling between host patches negatively affects the rate of fitness gain of females (Charnov, 1976; Speirs et al., 1991; Wajnberg, 2006; Barrette et al., 2010).

Acknowledgements

The authors would like to thank Julie Frenette, Danielle Thibodeau and Josiane Vaillancourt for their technical support, useful advises and great spirit. This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, Agriculture and Agri-Food Canada and the Canada Research Chair in Biological Control.

References

- Abram PK, Brodeur J, Burte V & Boivin G (2016). Parasitoid-induced host egg abortion: an underappreciated component of biological control services provided by egg parasitoids. *Biological Control*, 98 : 52-60.
- Ahmad M, Ahmad MJ, Mishra RK & Sheel SK (2002). Superparasitism by *Trichogramma poliae* in the eggs of *Clostera cupreata* (Lepidoptera: Notodontidae) and its effect on offspring. *Journal of Tropical Forest Science*, 61-70.
- Ardeh MJ, De Jong PW & van Lenteren JC (2005). Intra- and interspecific host discrimination in arrhenotokous and thelytokous *Eretmocerus* spp. *Biological Control*, 33 : 74-80.
- Asgari S & Rivers DB (2011). Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host-parasite interactions. *Annual Review of Entomology*, 56: 313-335.

- Barrette M, Boivin G, Brodeur J & Giraldeau L-A (2010). Travel time affects optimal diets in depleting patches. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64: 593-598.
- Boivin G & Brodeur J (2006). Intra-and interspecific interactions among parasitoids: mechanisms, outcomes and biological control. In : Brodeur J & Boivin G (eds.). *Trophic and guild interactions in biological control*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 123-144.
- Boivin G (2010a). Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. *Neotropical Entomology*, 39 : 457-463.
- Boivin G (2010b). Reproduction and immature development of egg parasitoids. In : Cònsoli FL, Parra JRP & Zucchi RA (dir.). *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 1-23.
- Bolhuis JJ & Giraldeau L-A (2005). The behavior of animals: mechanisms, function, and evolution. Blackwell Publishing. Oxford.. 536 p.
- Brockelman WY (1975). Competition, the fitness of offspring, and optimal clutch size. *The American Naturalist*, 109: 677-699.
- Brodeur J (2000). Host specificity and trophic relationships of hyperparasitoids. In : Hochberg ME & Ives AR (Eds.). *Parasitoid population biology*. Princeton University Press. Princeton. pp. 163-183.
- Brodeur J & Boivin G (2004). Functional ecology of immature parasitoids. *Annual Reviews of Entomology*, 49: 27-49.
- Charnov EL (1976). Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, 9 : 129-136.

- 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 : 70-75.
- Dorn S & Beckage NE (2007). Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. *Physiological Entomology*, 32 : 199-211.
- Doyon J & Boivin G (2005). The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. *Journal of Insect Science*, 5 : 4-9.
- Durocher-Granger L (2011). The effects of phenotypic plasticity on reproductive success of *Trichogramma euproctidis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). M.Sc. Thesis. McGill University. Montréal. 96 pp.
- Fournier F & Boivin G (2000). Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environmental Entomology*, 29 : 55-63.
- Godfray HCJ (1994). Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press. Princeton. 475 pp.
- Grenier S, Basso C & Pintureau B (2001). Effects of the host species and the number of parasitoids per host on the size of some *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Science and Technology*, 11: 21-26.
- Gu H, Wang Q & Dorn S (2003). Superparasitism in *Cotesia glomerata*: response of hosts and consequences for parasitoids. *Ecological Entomology*, 28 : 422-431.

- Harvey JA, Poelman EH & Tanaka T (2013). Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual Review of Entomology*, 58: 333-351.
- Heslin LM & Merritt DJ (2005). Cannibalistic feeding of larval *Trichogramma carverae* parasitoids in moth eggs. *Naturwissenschaften*, 92 : 435-439.
- Jakob EM, Marshall SD & Uetz GW (1996). Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos*, 61-67.
- Jarjees EA & Merritt DJ (2002). Development of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) host eggs. *Austral Entomology*, 41 : 310-315.
- Kfir R & Rossen D (1981). Biology of the hyperparasite *Pachyneuron concolor* (Förster)(Hymenoptera: Pteromalidae) reared on *Microterys flavus* (Howard) in brown soft scale. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa*, 44: 151-163.
- Martel V, Doyon J & Boivin G (2010). Partial local mate competition in the wasp *Trichogramma euproctidis*: the role of emergence sex ratio on female mating behaviour. *Ecological Entomology*, 35 : 698-703.
- Mayhew PJ (1997). Fitness consequences of ovicide in a parasitoid wasp. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 84: 115-126.
- Milinski M., Parker G.A. (1991). Competition for resources. In : Krebs JR & Davies NB (Eds.). *Behavioural Ecology, an Evolutionary Approach (3rd ed.)*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. pp. 137-168.
- Montoya P, Ruiz L, Pérez-Lachaud G, Cancino J & Liedo P (2013). Field superparasitism by *Diachasmimorpha longicaudata* attacking *Anastrepha* spp. larvae on mango fruits. *Biological Control*, 64 : 160-165.

- Morin PJ (2011). Community ecology (2nd Ed.). Wiley-Blackwell. Oxford. 424 pp.
- Muratori FB, Borlee S & Messing RH (2010). Induced niche shift as an anti-predator response for an endoparasitoid. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277: 1475-1480.
- Netting JF & Hunter MS (2000). Ovicide in the whitefly parasitoid, *Encarsia formosa*. *Animal Behaviour*, 60 : 217-226.
- Nicholson AJ (1954). An outline of the dynamics of animal populations. *Australian Journal of Zoology*, 2 : 9-65.
- Pérez-Lachaud G, Batchelor TP & Hardy IC (2004). Wasp eat wasp: facultative hyperparasitism and intra-guild predation by bethylid wasps. *Biological Control*, 30 : 149-155.
- Roitberg B, Boivin G & Vet LEM (2001). Fitness, parasitoids, and biological control : an opinion. *The Canadian Entomologist*, 133: 429-438.
- Maynard-Smith J (1974). The theory of games and the evolution of animal conflicts. *Journal of Theoretical Biology*, 47: 209-221.
- Sousa JM & Spence JR (2000). Effects of mating status and parasitoid density on superparasitism and offspring fitness in *Tiphodytes gerriphagus* (Hymenoptera : Scelionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93: 548-553.
- Speirs DC & Hubbard SF (1991). Parasitoid diets: Does superparasitism pay? *Trends in Ecology & Evolution*, 6 : 22-25.
- Stephens DW & Krebs JR (1986). Foraging theory. Princeton University Press. Princeton. 247 pp.

- Strand MR & Vinson S (1984). Facultative hyperparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 77: 679-686.
- Strand MR & Godfray HCJ (1989). Superparasitism and ovicide in parasitic Hymenoptera: theory and a case study of the ectoparasitoid *Bracon hebetor*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 24: 421-432.
- Sullivan DJ & Völkl W (1999). Hyperparasitism: multitrophic ecology and behavior. *Annual Review of Entomology*, 44: 291-315.
- Tagawa J (2000). Sex allocation and clutch size in the gregarious larval endoparasitoid wasp, *Cotesia glomerata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97: 193-202.
- Tena A, Kapranas A, Garcia-Marí F & Luck RF (2008). Host discrimination, superparasitism and infanticide by a gregarious endoparasitoid. *Animal Behaviour*, 76 : 789-799.
- van Alphen JJ & Visser ME (1990). Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 35: 59-79.
- van Baaren J, Boivin G & Nénon J-P (1995). Intraspecific hyperparasitism in a primary hymenopteran parasitoid. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 36: 237-242.
- van Baaren J & Boivin G (1998). Learning affects host discrimination behavior in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 42: 9-16.
- van Dijken MJ & Waage JK (1987). Self and conspecific superparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma evanescens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 43: 183-192.

- Vinson SB & Iwantsch G (1980). Host suitability for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 25: 397-419.
- Visser ME, van Alphen JJ & Nell HW (1990). Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: the influence of the number of parasitoids depleting a patch. *Behaviour*, 114 : 21-36.
- Visser ME, Luyckx B, Nell HW & Boskamp GJ (1992). Adaptive superparasitism in solitary parasitoids: marking of parasitized hosts in relation to the pay-off from superparasitism. *Ecological Entomology*, 17 : 76-82.
- Wajnberg E (2006). Time allocation strategies in insect parasitoids: from ultimate predictions to proximate behavioral mechanisms. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60: 589-611.
- Warkentin KM (2011). Environmentally cued hatching across taxa: embryos respond to risk and opportunity. *Integrative and Comparative Biology*, 51: 14-25.

Figures

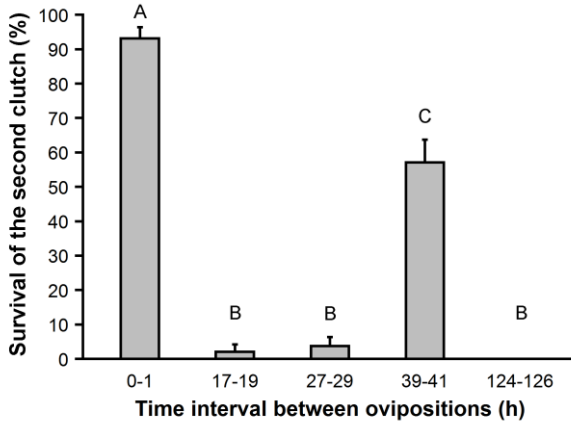


Figure 1. Percent survival ($X \pm SE$) of *T. euproctidis* progeny following superparasitism in *E. kuehniella* host eggs at different oviposition time intervals (T1 : 0-1 h, n=59; T2 : 17-19 h, n=47; T3 : 27-29 h, n=54; T4 : 38-41 h, n=56; T5 : 124-126 h, n=5). Mean survival of the second clutch was obtained by pooling data from both *T. euproctidis* lines (A5 and C14; see text for details). Different letters above bars indicate significant differences among treatments (Fisher's exact test).

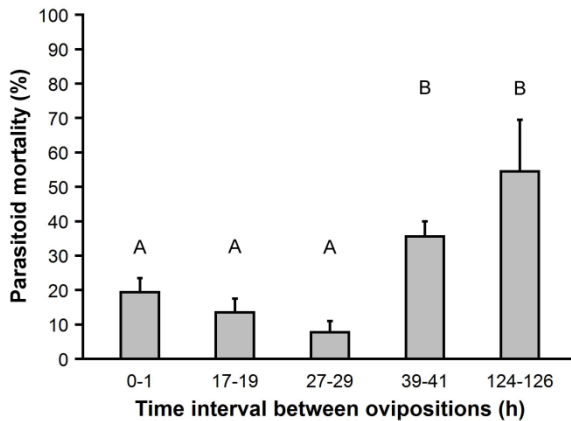


Figure 2. Percent parasitoid mortality ($X \pm SE$) in *T. euproctidis* following superparasitism in *E. kuehniella* host eggs at different oviposition time intervals (T1 : 0-1 h, n=93; T2 : 17-19 h, n=74; T3 : 27-29 h, n=65; T4 : 39-41 h, n=118; T5 : 124-126 h, n=11). Parasitoid mortality refers to hosts from which no adult parasitoid had emerged. Mean parasitoid mortality was obtained by pooling data from both *T. euproctidis* lines (A5 and C14; see text for details). Different letters above bars indicate significant differences among treatments (Fisher's exact test).

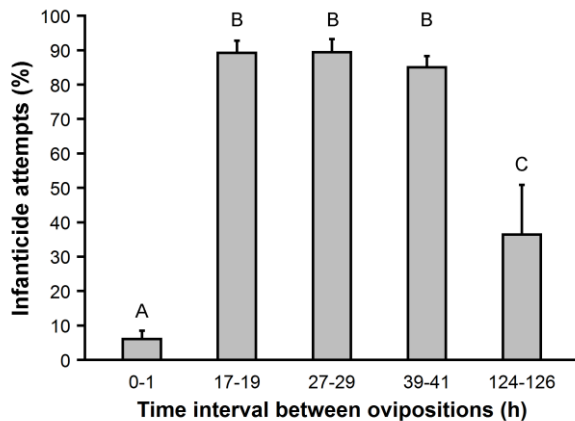


Figure 3. Percent infanticide attempts by superparasitizing *T. euproctidis* females ($X \pm SE$), at different oviposition intervals (T1 : 0-1 h, n=98; T2 : 17-19 h, n=74; T3 : 27-29 h, n=66; T4 : 39-41 h, n=120; T5: 124-126 h, n=11). Means were obtained by pooling data from both *T. euproctidis* lines (A5 and C14; see text for details). Different letters above bars indicate significant differences among treatments (Fisher's exact test).

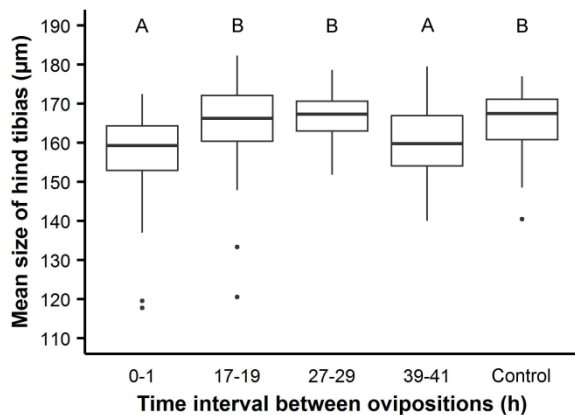


Figure 4. Mean hind tibia size ($X \pm SE$) for *T. euproctidis* emerging from superparasitized *E. kuehniella* host eggs at different oviposition intervals (T1: 0-1 h, n=56; T2: 17-19 h, n=52; T3: 27-29 h, n=41; T34: 39-41 h, n=66) and from non-superparasitized control host eggs (n=32). Dots on the figure are outliers. Mean sizes of both *T. euproctidis* lines were pooled (A5 and C14; see text for details). Different letters above bars indicate significant differences among treatments (Least-squares means).

**Chapitre 3: Competition-induced development rate
acceleration in embryos provides competitive advantage
under superparasitism in an egg parasitoid.**

Jean-François Duval, Jacques Brodeur, Guy Boivin

À soumettre

Competition-induced development rate acceleration in embryos provides competitive advantage under superparasitism in an egg parasitoid.

Jean-François Duval^{1,2}, Jacques Brodeur¹, Guy Boivin²

¹Department of biological sciences, Institut de Recherche en Biologie Végétale, Université de Montréal, 4101 Sherbrooke Est, Montréal, QC, Canada, H1X 2B2

²St-Jean-sur-Richelieu Research and Development Center, Agriculture and Agri-Food Canada, 430 boul. Gouin, St-Jean-sur-Richelieu, QC, Canada J3B 3E6

Corresponding author:

Jean-François Duval

Université de Montréal

Institut de Recherche en Biologie Végétale

4101 Sherbrooke Est

Montréal, Québec

H1X 2B2 Canada

Tel: +1 514 343 6111 x 82548

Email : jean-francois.duval.3@umontreal.ca

Running title: Competition-induced development rate acceleration in parasitoids

Abstract

Heterokairy is a form of plasticity in the timing of physiological development within a species in response to environmental changes and competition. We hypothesized that parasitoid embryos accelerate their developmental rate when engaged in scramble competition with conspecifics. Under laboratory conditions, we determined the effects of superparasitism on the embryonic development of the egg parasitoid *Trichogramma euproctidis* when exploiting *Ephestia kuehniella* host eggs. Parasitized and superparasitized hosts were dissected at intervals during parasitoid embryonic development to measure time of hatching, egg volume and whether eggs from the first clutch had been punctured by superparasitizing females at oviposition or not. We found that *T. euproctidis* embryos developing in conditions of polygynous superparasitism hatched up to 20% earlier than individuals developing alone in their host or in conditions of monogynous superparasitism (i.e., two eggs laid by the same female in a host). Parasitoid egg volume growth rate was significantly higher in one of the clutches when embryos developed in superparasitized hosts. Our results support the hypothesis of competition-induced development rate acceleration in parasitoids, but only under conditions of polygynous superparasitism.

KEY WORDS: Development rate; Heterokairy; Oviposition time intervals; Scramble competition; Host discrimination; *Trichogramma*.

Introduction

Competition is a mutually negative interaction between individuals from the same guild or trophic level. It reduces fitness components such as body size, growth rate, fecundity and survivorship of protagonists and ecological studies have widely identified competition as a major determinant of the dynamics and evolution of aquatic and terrestrial communities (Morin, 2011). Individuals competing for resources usually engage either in contest or scramble competition. Individuals engage in contest competition attempt to monopolize the resource through behaviors such as aggression or territorial defense. In scramble competition, individuals compete to rapidly acquire shared resources, depriving competitors of resources needed for survival (Nicholson, 1954; Milinski and Parker, 1991).

Amongst the numerous competition strategies encountered in nature, developmental plasticity is a rare form observed in immatures (Warkentin, 2011). Heterokairy corresponds to the individual plasticity of development events and timing, and is modulated by environmental factors, including competition (Spicer and Burggren, 2003; Spicer and Rundle, 2007; Rundle and Spicer, 2016). In turtles and birds, for example, embryos can hatch earlier when in presence of more advanced embryos in a nest (Brua 2002; Spencer and Janzen, 2011). In contrast, freshwater snails and marine polychaetes can delay hatching when perceiving chemical signals emitted by starving adults (Voronezhskaya et al., 2008). In conditions of scramble competition, accelerated embryonic development leading to early hatching could provide a faster access to resources needed for full development.

Facultative gregarious egg parasitoids are excellent models to explore how developmental rate can be affected by scramble competition, which is the main form of competition of immatures exploiting hosts gregariously (Boivin and Brodeur, 2006). Idiobionts by nature, they develop in resource-limited hosts and often compete to consume these resources (Boivin and Martel, 2012). The fitness gain of immatures depends on the number of competitors per host egg and their body size usually decreases with increasing number of parasitoids in a host (van Alphen and Visser, 1990; Grenier et al., 2001); body size being positively correlated to fitness in egg parasitoids (Boivin, 2010a).

Superparasitism is a type of competition found in parasitoids when a host is attacked more than once by one, two or more females of the same species (Godfray, 1994). In such conditions, the probability of survival of a clutch has been shown to be time-dependent. In most studies, the first clutch laid in a host had the highest probability to survive and this probability increased with the time interval between ovipositions (Harvey et al., 2013). Superparasitizing females can however eliminate a competitor's clutch or interfere with its development. Females can perform infanticide by stabbing the clutch of a competitor using their ovipositor (Godfray, 1994; Tena et al., 2008). They can also kill the first clutch through hyperparasitism, laying their eggs directly in the first clutch (Godfray, 1994; Brodeur, 2000). Furthermore, parasitoid females could inject venoms at oviposition to kill or stop the development of competitors already present in a host (Takasu et Hirose, 1988; Yamada et Miyamoto, 1998; Mandour et al., 2008), but such role of venoms remains to be fully understood in parasitoid-parasitoid interactions (Asgari and Rivers, 2011).

In the egg parasitoid *Trichogramma euproctidis* (Girault), Durocher-Granger (2011) and Duval et al. (unpublished data) found a significant advantage of the second clutch (> 90% survival) over the first clutch in short superparasitism time interval (0-1h). Superparasitizing *T. euproctidis* females rarely attempted infanticide (~ 6%), but there was a reduction in fitness for the surviving competitor as adults were smaller than control individuals (Duval et al., submitted). In this study, we hypothesised that the first clutch is not killed at oviposition, but that a competition-induced development rate acceleration provides an advantage to the second clutch. Under laboratory conditions, we measured the embryonic development duration and egg volume increase of *T. euproctidis* embryos in singly-parasitized (control) and superparasitized *Ephestia kuehniella* (Zeller) host eggs.

Material and Methods

Biological model

Most *Trichogramma* species are idiobiont, facultative gregarious egg parasitoids. The freshly deposited hymenopteriform eggs measure 100-140 μm in length and 30-50 μm in width. The eggs are hydropic and absorb host tissues through their membrane as they grow in

size and develop further. Virgin females lay only male eggs. Larvae are vermiform, have reduced mandibles and move slowly within the host (Boivin, 2010b). *Trichogramma* females inject chemical compounds into their hosts while ovipositing in order to kill the host and create a suitable milieu for the immatures (Abdel-Latif and Hilker, 2008; Asgari and Rivers, 2011).

In this study, we used two isofemale lines (referred to as A5 and C14) of an Egyptian strain of *T. euproctidis* (Genbank accession number HM116410). Parasitoid colonies were reared on cold-killed *E. kuehniella* eggs at 24°C, L:D 16:8 h. *Trichogramma euproctidis* completes its development in 10 days under these conditions (Doyon and Boivin, 2005). *Ephestia kuehniella* host eggs were chosen because they support the development of only one *Trichogramma* embryo (rarely two).

Host dissections

We were unable to measure the embryonic development of *T. euproctidis* directly because host tissues are opaque and do not allow accurate observations. Parasitized host eggs were thus dissected at intervals during parasitoid development (see below).

Singly-parasitized (control) and superparasitized hosts were obtained following the methodology described in Duval et al. (submitted), with a few modifications. Prior to each experiment, *T. euproctidis* females of both lines were isolated in 300- μ l Beem® polyethylene capsules (Ted Pella Inc., Redding, California) before emergence. Females used in our tests were unmated, unfed, naive and 0-24 h old. Live *E. kuehniella* host eggs were 0-36 h old when used.

Parasitized host eggs were obtained by placing a female from a first line (either A5 or C14, selected randomly before each test) on a host patch of nine *E. kuehniella* eggs on a filter paper in a 40X12 mm polystyrene Petri dish (3X3 grid). Parasitism was confirmed by visual observation. Superparasitized host eggs were obtained by transferring parasitized hosts to a treatment patch of nine parasitized host eggs. A female of the second line was next placed on the parasitized host patch. Following a superparasitism event, the female was removed from the patch and replaced by a new one of the same line. Parasitized and superparasitized hosts

were next transferred individually to *capsules* for incubation at 24°C, L:D 16:8 h, until dissection.

Treatments consisted of different parasitoid embryonic development durations. Control hosts were dissected each hour from 30 h to 36 h of parasitoid development whereas superparasitized hosts were dissected each hour from 26 h to 34 h. These treatments correspond to patterns of hatching (from 0% to 100%) observed in control and superparasitized hosts during preliminary observations. Hosts were dissected in physiological solution using #1 entomological needles. Immature parasitoids (eggs and larvae) in each host were counted and inspected under a stereomicroscope (400X) to determine if they were dead or alive, and if they bear morphological damages (i.e., punctured by the superparasitizing female, deformed or deflated). Between 18 and 26 hosts were successfully dissected for each line and treatment, with an average of 40 dissections per treatment.

Egg volume measurement

Parasitoid egg volume was measured in order to model their gradual increase in volume, an indirect measure of embryonic developmental rate. All control hosts eggs contained one parasitoid egg (n=118) and all superparasitized host eggs contained two parasitoid egg (n=30). Both host types were obtained and dissected as described above at intervals from oviposition to hatching (from 5 min to 31.5 h). Parasitoid eggs were measured under a stereomicroscope at 400X. Using the maximum length and width, and assuming equal minor axes, parasitoid egg volume was estimated by the formula:

$$\text{Volume} = \pi / 6 \times \text{width}^2 \times \text{length} \text{ (Royer and McNeil, 1993).}$$

Statistical analyses

In many cases, females laid more than one egg in both control and superparasitized host. Thus, mean number of eggs laid per female per host for control and superparasitized groups were compared using a Wilcoxon-Mann-Whitney test for non-normal distributions.

In the absence of a direct measurement of embryonic development duration, we used a logistic regression to estimate the probability of parasitoid hatching in control and superparasitized hosts. The model was built using group (control or superparasitized),

treatment, line and their interaction as the predictors, and the hatching status of embryos (hatched / not hatched) as the categorical dependent variable. A post-hoc least-squares means test was applied on predicted probabilities of the model to contrast the groups.

The hatching status of both clutches in superparasitized hosts was analysed with a logistic regression using the line, treatment and their interaction as the predictors, and the hatching status (one clutch hatched / all clutches hatched) as the categorical dependent variable. Hatching status of multiple eggs clutches (monogynous superparasitism) versus single egg clutches in control hosts was also contrasted using a logistic regression model which included treatment and number of parasitoids per host as the predictors and the hatching status (hatched / not hatched) as the dependent categorical variable.

Parasitoid egg volume data were divided in three groups for analysis: control parasitoid eggs, largest parasitoid eggs in superparasitized hosts (assumed to be the most competitive clutch / individuals), and smallest parasitoid eggs in superparasitized hosts (assumed to be the less competitive clutch / individuals). Volume data were linearized by applying a log-log transformation. Next, a one-way analysis of covariance was conducted on the three groups to test for differences in egg volume increase rate, when controlling for development time. All statistical analyses were conducted using the R software (v.3.4.0)

Results

The identity of the parasitoid line (A5 or C14) was first included in all models testing for differences in embryonic development duration. Since lines had no effect on development duration in any analyses, data from both lines were pooled for each treatment.

Control *T. euproctidis* females laid significantly more eggs per host (1.13 ± 0.02 ($X \pm SE$); $n = 319$) than females from the superparasitized group (1.04 ± 0.01 ($X \pm SE$); $n = 378$) (Wilcoxon-Mann-Whitney test; $P = 0.006$). None of the eggs were punctured by the superparasitizing females, deformed or deflated.

In the control group (singly-parasitized hosts), first hatchings were observed at 32 h of development, with 59.0% of all hosts containing a larva at that time (Figure 5). Three hours later all hosts contained a larva. In the superparasitized group, first hatchings were observed at

28 h of development, with 50.0% of all hosts containing at least one larva at that time. All hosts contained at least one parasitoid larva after 34 hours of development. Embryonic development of *T. euproctidis* was up to 20% faster in condition of superparasitism than in the control treatment. There was a significant interaction between group and development duration as the probability of hosts containing a larva in the superparasitized group was significantly higher than in the control group before 35 h (Least-squares means; $P < 0.001$), but did not differ between groups after 35 h (Least-squares means; $P > 0.05$).

Polygynous superparasitism caused both clutches to accelerate their development (Figure 6). In superparasitized hosts dissected at 28 h of parasitoid development, 43.5% of the hosts had all their parasitoid embryos hatched (i.e., from both clutches). On the other hand, monogynous superparasitism did not cause early hatching of parasitoid embryos when compared to control hosts with a single egg (Logistic regression; AIC = 128.8; $P > 0.05$). Monogynous superparasitism was observed in 13.17% of all control hosts ($n=42$ all treatments combined). The logistic model indicates that development duration is a significant predictor of the hatching status (one clutch hatched / all clutches hatched) of parasitoid embryos in polygynous superparasitism, and its positive coefficient indicates that an increase in development duration also increases the probability of having both clutch hatched (Logistic regression; OR = 2.144; AIC = 308.60; $P < 0.001$).

Volume increase rate of largest parasitoid eggs in superparasitized hosts was significantly higher than volume increase rate of smallest eggs in superparasitized hosts and of eggs in control hosts (ANCOVA: $F_{(2,170)}=9.14$; $P < 0.001$; Figure 7).

Discussion

We investigated the development rate of *T. euproctidis* when exploiting a host either alone, or in conditions of monogynous and polygynous superparasitism. Our results show that polygynous superparasitism triggers an acceleration of embryonic development in competing clutches when ovipositions occur within a short interval (0-1 h). In contrast, monogynous superparasitism did not trigger the acceleration of embryonic development. This is the first experimental evidence of competition-induced development rate acceleration in parasitoids.

Development rate and oviposition interval

It has been demonstrated that within short superparasitism interval (0-1 h), the second *T. euproctidis* clutch laid in *E. kuehniella* host egg wins competition and survives in over 90% cases and that, as the interval increases, this probability decreases to almost 0% (Durocher-Granger et al., 2011; Duval et al., unpublished data). The present results show that the development rate of *T. euproctidis* embryos developing in hosts superparasitized within a short interval was accelerated up to 20% compared to embryos developing in singly-parasitized control hosts. Following superparasitism, parasitoid eggs and larvae were not damaged, suggesting that they had not been mechanically affected by infanticide attempts or by chemicals released by ovipositing females. Following our hypothesis, for the second clutch to win the competition, the embryo must develop faster and hatch earlier than its competitor to be the first to gain access to the resources, thereby depriving other larvae of the resources required for development. Being the more developed immature in a host could also provide another form of competitive advantage. In *Trichogramma carverae*, older larvae can consume their competitors by sucking their body fluids using their pharyngeal siphon (Heslin and Merrit, 2005). In exploratory dissections of hosts superparasitized after longer intervals (17h-19h and 27-29h), we found that the first clutch was clearly more advanced in its development than the second clutch, and these hosts were not investigated further as the second clutch would be eliminated by the first clutch before hatching.

Our results can be used to predict the maximum interval between two oviposition bouts that would provide an advantage to the second clutch over the first clutch. The earliest embryo hatching observed in superparasitized hosts was at 28 h, four hours earlier than for control parasitized hosts. A conservative prediction would be that the threshold under which the second clutch would have the advantage would be of 4 h or less. Its competitiveness would then progressively diminish to reach about 50% probability to win at the 7 h interval, which corresponds to the earliest hatching of embryos in control hosts. Following the 7 h interval threshold, the second clutch's probability to win the competition would rapidly drop to near 0%; the first clutch always hatching first and monopolizing resources of the host (Duval et al., unpublished data).

Development plasticity in conditions of superparasitism

Heterokairy has previously been reported in the aphid parasitoid *Endaphis fugitiva* (Muratori et al., 2010) that completes its development more rapidly in response to increasing predation risk. In *T. euproctidis*, heterokairy is triggered by competition from non-siblings. In our control treatments, 13% of hosts showed monogynous superparasitism (i.e. contained more than one sibling). In this case, although the hosts would still allow only one immature to reach adulthood, no acceleration was detected in the development rate of parasitoid embryos. This suggests that competition-induced development rate acceleration only occurs under conditions of polygynous superparasitism.

At this point, we can only speculate about the mechanisms involved in *T. euproctidis* developmental plasticity. However, chemical cues are likely to be involved. Although immatures of several parasitoids species can secrete chemicals (e.g., venom) that interfere with other immatures in a host (Vinson and Hegazi, 1998), immatures are probably not the source of these chemicals in this case. First, *T. euproctidis* is facultative gregarious and clutches from different females can successfully develop in large hosts. Second, if chemicals were secreted by eggs or larvae, the effect would also be observed in siblings (Tena et al., 2008). On the other hand, superparasitizing females might have the capacity to inject chemicals at oviposition to modify the host's environment and cause an acceleration of the embryonic development. Females *T. euproctidis* can perceive competition when superparasitizing a host (Duval et al., submitted) and thus could react by injecting chemicals that penetrate the permeable membrane of the fresh hydropic eggs and increase development rate. Parasitoid eggs could be sensitive to chemicals injected by superparasitizing females for a short period following oviposition, explaining why the developmental acceleration was different in both clutches. Fading sensitivity to biotic cues such as chemicals has been observed in other organisms (Warkentin, 2011) and immatures of some parasitoid species are known to become tolerant or less sensitive to female injected compounds as they age (Petters and Stefanelli, 1983; Mackauer, 1990).

Although we could not differentiate between clutches in superparasitized hosts and assess differential development rate between them, our data on parasitoid egg volume suggest that one of the clutches is developing faster than the other. With the large advantage of the

second clutch over the first clutch observed in short superparasitism time interval, we can probably assume that largest eggs were the most competitive embryos and originated from the second oviposition, and that their faster development allowed them to hatch prior to their competitor.

The evolution of superparasitism in *Trichogramma*

On-patch competition favours superparasitism because parasitoid females progressively fail to find healthy hosts (Goubault et al., 2005). For the competition-induced development rate acceleration to be selected, superparasitism should be a frequent condition in nature. We have no evidence of superparasitism levels in *Trichogramma* under natural conditions, but the few studies that quantified superparasitism, mostly in the Braconidae, reported high superparasitism levels (between 25% and 55%; Dorn and Beckage, 2007). Nevertheless, *Trichogramma* are facultative gregarious and several larvae often develop together in large hosts, either from self or polygynous superparasitism (Boivin and Brodeur, 2006). Superparasitism is likely to be common for *T. euproctidis* because females have evolved the capacity to discriminate between parasitized and healthy hosts, although they seem unable to determine the embryonic stage of the competitor inside the host (Duval et al., unpublished data).

When the second *T. euproctidis* clutch wins the competition in short superparasitism time interval, the emerging adult is smaller than individuals developing alone (Duval et al., submitted), suggesting that a fitness cost is associated to superparasitism, probably through the acceleration of development rate. The relation between development rate and body size has been shown in non-competitive conditions in parasitoids. The Temperature-Size Rule (Atkinson, 1994; Angilletta et al., 2004) applies to *T. euproctidis* as individuals reared at 30°C develop faster and are smaller than individuals reared at lower temperatures (G. Boivin, unpublished data). Although this mechanism is not fully understood, it has been suggested that the duration of an immature's access to the resources might influence his ability to consume and convert them into tissues, especially in idiobiont species (Boivin, 2010a). This relation between the development rate and body size could also apply to the competition-induced development rate acceleration.

Acknowledgements

The authors would like to thank Josée Doyon, Julie Frenette, Danielle Thibodeau and Josiane Vaillancourt for their continuous technical support, as well as David Emond and Stéphane Daigle for statistical advice. This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, Agriculture and Agri-Food Canada and the Canada Research Chair in Biological Control.

References

- Abdel-Latif M & Hilker M (2008). Innate immunity: eggs of *Manduca sexta* are able to respond to parasitism by *Trichogramma evanescens*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38: 136-145.
- Angilletta Jr MJ, Steury TD & Sears MW (2004). Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. *Integrative and Comparative Biology*, 44: 498-509.
- Asgari S & Rivers DB (2011). Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host-parasite interactions. *Annual Review of Entomology*, 56: 313-335.
- Atkinson D (1994). Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, 25: 1-58.
- Boivin G & Brodeur J (2006). Intra-and interspecific interactions among parasitoids: mechanisms, outcomes and biological control. In: Brodeur J & Boivin G (eds.). *Trophic and guild interactions in biological control*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 123-144.
- Boivin G (2010a). Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. *Neotropical Entomology*, 39: 457-463.

- Boivin G (2010b). Reproduction and immature development of egg parasitoids. In: Côté FL, Parra JRP & Zucchi RA (eds.). *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer, Dordrecht, The Netherlands. pp. 1-23.
- Boivin G & Martel V (2012). Size-induced reproductive constraints in an egg parasitoid. *Journal of Insect Physiology*, 58: 1694-1700.
- Brodeur J (2000). Host specificity and trophic relationships of hyperparasitoids. In: Hochberg M E & Ives A R (eds.). *Parasitoid population biology*. Princeton University Press. Princeton. pp. 163-183.
- Brua RB (2002). Parent-embryo interactions. In: Deeming DC (ed.). *Avian incubation: behaviour, environment, and evolution*. Oxford University Press. Oxford. p. 88-99.
- Dorn S & Beckage NE (2007). Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. *Physiological Entomology*, 32: 199-211.
- Doyon J & Boivin G (2005). The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. *Journal of Insect Science*, 5: 4-9.
- Durocher-Granger L (2011). The effects of phenotypic plasticity on reproductive success of *Trichogramma euproctidis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). M.Sc. Thesis. McGill University. Montréal. 96 pp.
- Duval J-F, Brodeur J, Doyon J, Boivin G. Impact of superparasitism time intervals on progeny survival and fitness of an egg parasitoid. (Submitted)
- Godfray HCJ (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press. Princeton. 475 pp.
- Goubault M, Outreman Y, Poinot D & Cortesero AM (2005). Patch exploitation strategies of parasitic wasps under intraspecific competition. *Behavioral Ecology*, 16: 693-701.

- Grenier S, Basso C & Pintureau B (2001). Effects of the host species and the number of parasitoids per host on the size of some *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Science and Technology*, 11: 21-26.
- Harvey JA, Poelman EH & Tanaka T (2013). Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual Review of Entomology*, 58: 333-351.
- Heslin LM & Merritt DJ (2005). Cannibalistic feeding of larval *Trichogramma carverae* parasitoids in moth eggs. *Naturwissenschaften*, 92: 435-439.
- Mackauer M (1990). Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. In: Mackauer M, Ehler LE & Roland J (eds.). *Critical Issues in Biological Control*. Intercept. Andover. pp. 41-62.
- Mandour NS, Mahmoud MF, Osman Ma-N & Qiu B (2008). Efficiency, intrinsic competition and interspecific host discrimination of *Copidosoma desantisi* and *Trichogramma evanescens*, two parasitoids of *Phthorimaea operculella*. *Biocontrol Science and Technology*, 18: 903-912.
- Milinski M., Parker G.A. (1991). Competition for resources. In: Krebs JR & Davies NB (eds.). *Behavioural Ecology, an Evolutionary Approach (3rd ed.)*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. pp. 137-168.
- Morin PJ (2011). *Community ecology (2nd Ed.)*. Wiley-Blackwell. Oxford. 424 pp.
- Muratori FB, Borlee S & Messing RH (2010). Induced niche shift as an anti-predator response for an endoparasitoid. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277: 1475-1480.
- Nicholson AJ (1954). An outline of the dynamics of animal populations. *Australian Journal of Zoology*, 2: 9-65.
- Petters RM & Stefanelli J (1983). Developmental arrest of endoparasitoid wasp larvae (*Nemeritis canescens* Grav.) caused by an ectoparasitoid wasp (*Bracon hebetor* Say). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 225: 459-465.

- Royer L & McNeil J (1993). Male investment in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae): impact on female longevity and reproductive performance. *Functional Ecology*, 209-215.
- Rundle SD & Spicer JI (2016). Heterokairy: a significant form of developmental plasticity? *Biology Letters*, 12. DOI: 10.1098/rsbl.2016.0509.
- Spencer R-J & Janzen FJ (2011). Hatching behavior in turtles. *Integrative and Comparative Biology*, 51: 100-110.
- Spicer JI & Burggren WW (2003). Development of physiological regulatory systems: altering the timing of crucial events. *Zoology*, 106: 91-99.
- Spicer JI & Rundle SD (2007). Plasticity in the timing of physiological development: Physiological heterokairy—What is it, how frequent is it, and does it matter? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 148: 712-719.
- Takasu K & Hirose Y (1988). Host discrimination in the parasitoid *Ooencyrtus nezarae*: the role of the egg stalk as an external marker. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 47: 45-48.
- Tena A, Kapranas A, Garcia-Marí F & Luck RF (2008). Host discrimination, superparasitism and infanticide by a gregarious endoparasitoid. *Animal Behaviour*, 76: 789-799.
- van Alphen JJ & Visser ME (1990). Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 35: 59-79.
- Vinson S & Hegazi E (1998). A possible mechanism for the physiological suppression of conspecific eggs and larvae following superparasitism by solitary endoparasitoids. *Journal of Insect Physiology*, 44: 703-712.

- Voronezhskaya E, Glebov K, Khabarova M, Ponimaskin E & Nezlin L (2008). Adult-to-embryo chemical signaling in the regulation of larval development in trochophore animals: cellular and molecular mechanisms. *Acta Biologica Hungarica*, 59: 117-122.
- Warkentin KM (2011). Environmentally cued hatching across taxa: embryos respond to risk and opportunity. *Integrative and Comparative Biology*, 51: 14-25.
- Yamada YY & Miyamoto K (1998). Payoff from self and conspecific superparasitism in a dryinid parasitoid, *Haplogonatopus atratus*. *Oikos*: 209-216.

Figures

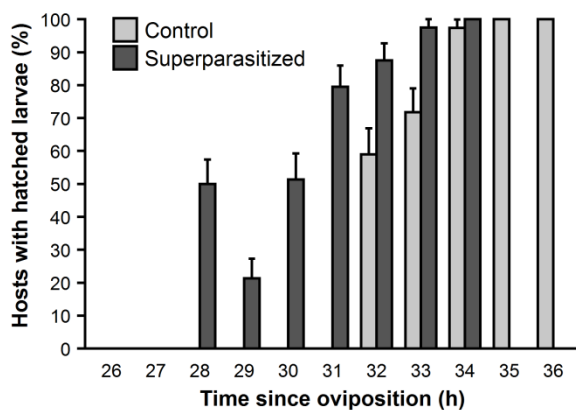


Figure 5. Percent *E. kuehniella* host eggs containing at least one hatched *T. euproctidis* larva ($X \pm SE$) at different time following oviposition for parasitized (control) and superparasitized hosts.

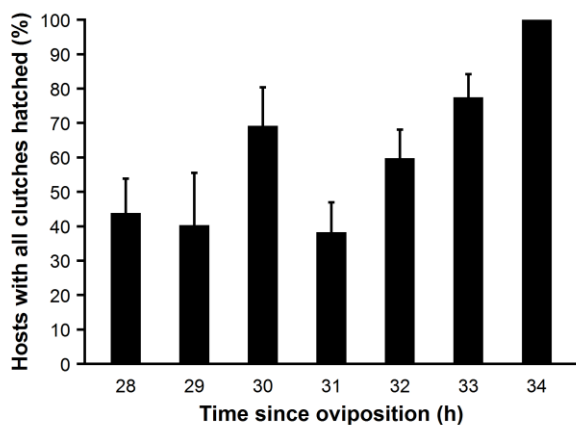


Figure 6. Percent superparasitized *E. kuehniella* host eggs where all *T. euproctidis* clutches have hatched ($X \pm SE$), at different time following oviposition.

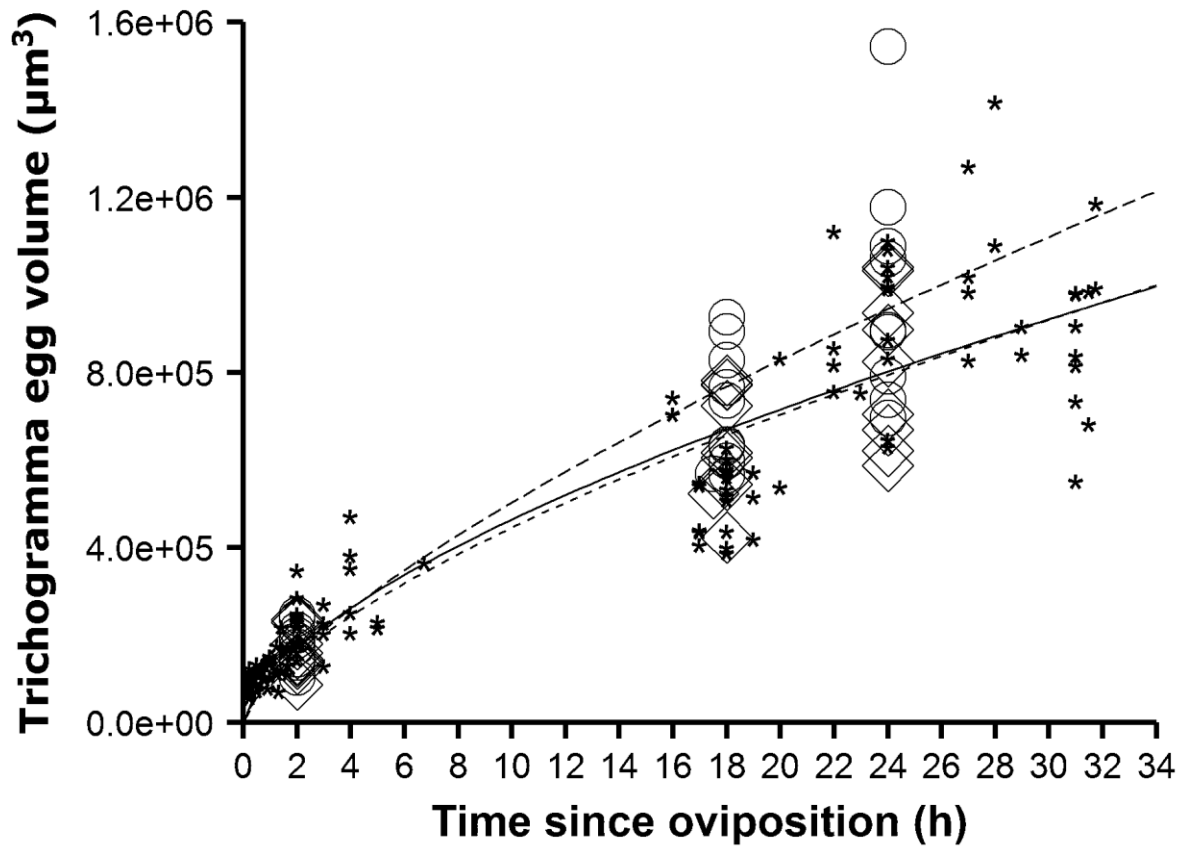


Figure 7. *Trichogramma euproctidis* egg volume (μm^3) at different time following oviposition. Control hosts (small asterisks; solid curve) contained one egg each. Superparasitized hosts contained two eggs each which were divided in two groups: largest parasitoid eggs of each host (circles; long-dashed curve) and smallest parasitoid eggs of each host (lozenges; small-dashed curve).

Conclusion

L'objectif de cette étude était de quantifier les effets du superparasitisme sur la valeur adaptative et la survie des immatures chez *T. euproctidis*. Pour ce faire, j'ai d'abord mesuré l'effet du délai entre les pontes sur ces dernières. Les résultats de l'étude confirment les observations de Durocher-Granger (2011) selon lesquelles lorsque deux femelles *T. euproctidis* pondent dans le même œuf hôte d'*E. kuehniella* avec moins d'une heure entre les pontes, la couvée de la seconde femelle remporte la compétition dans 93,1% des cas (excluant les hôtes où aucun adulte n'émerge). Le vainqueur de cette compétition est alors en moyenne 5,1% plus petit que les individus du groupe témoin, suggérant la présence d'une compétition pour les ressources entre les deux couvées et écartant l'hypothèse de l'infanticide. Les femelles *T. euproctidis* peuvent aussi remporter la compétition en agissant en tant qu'hyperparasitoïde facultatif des larves de leur espèce. L'hyperparasitisme intraspécifique n'a jamais été observé auparavant chez les trichogrammes, mais est connu chez les Mymaridae (van Baaren et al., 1995a) et les Bethylidae (Pérez-Lachaud et al., 2004). Lorsque les femelles hyperparasitent des larves de leur espèce, les probabilités de survie de la deuxième couvée sont d'environ 57% et les individus ont une taille 4,4% plus petite en moyenne que les individus témoins, probablement dû à la sclérotisation des tissus de la larve de la première couvée, devenus inassimilables, et à l'épuisement d'une partie des ressources de l'hôte (Kfir et Rosen, 1981; van Baaren et al., 1995a). Des hôtes parasités et superparasités ont également été disséqués à différents moments du développement des parasitoïdes dans le but d'examiner les œufs et les larves, et d'identifier le mécanisme permettant à la deuxième couvée de remporter la compétition lors des délais courts. Contrairement aux prédictions de l'étude, tous les œufs et les larves de parasitoïde étaient en parfaite condition au moment de leur inspection. Les couvées se trouvant dans des hôtes superparasités par plusieurs femelles se développent jusqu'à 20% plus rapidement que les couvées témoins se trouvant seules dans leur hôte. La plasticité du développement sous l'effet de la température est bien connue chez les ectothermes, mais aucune mention n'a été faite auparavant d'une réaction à la compétition chez les embryons d'insectes. Ce phénomène existe néanmoins chez d'autres groupes

d'animaux, notamment chez certains oiseaux et tortues dont la vitesse de développement est affectée par la présence d'embryons plus âgés dans le nid (Warkentin, 2011). Nous n'avons pas été en mesure d'identifier le mécanisme provoquant l'accélération du développement des embryons de *T. euproctidis*, mais nous avançons l'hypothèse qu'il s'agit d'une réaction des embryons à la présence de substances injectées par les femelles trichogrammes au moment de l'oviposition. Cette hypothèse est supportée par la nature hydropique des œufs de trichogrammes qui absorbent le contenu de l'hôte passivement à travers leur membrane (Boivin, 2010b) et sont donc également exposés aux composés émis par les femelles. De plus, le superparasitisme semble essentiel pour provoquer cette accélération, car lorsqu'un hôte contient deux larves issues d'une même ponte, celles-ci ne voient pas leur développement s'accélérer. Ces résultats confirment aussi l'importance de la synchronisation entre les pontes pour la survie de la seconde couvée, dont les probabilités de survie varient drastiquement en fonction du stade de développement de la première couvée.

Les données de cette étude suggèrent également que les femelles trichogrammes ont la capacité de discriminer les hôtes sains des hôtes parasités, mais qu'elles ne peuvent évaluer ni l'âge de la première couvée, ni le temps écoulé entre les pontes. Ainsi, sous les conditions requises (p.ex. la rareté des hôtes sains), les femelles superparasitent des hôtes de basse qualité, peu importe les probabilités de survie de leur couvée. De plus, elles tentent presque systématiquement d'éliminer la première couvée et ce malgré le fait que l'infanticide ne semble que partiellement efficace contre le stade larvaire des immatures. Les tentatives d'infanticide sont toutefois rarement observées lorsque les œufs de la première couvée viennent d'être déposés (0-1 h), phénomène qui pourrait s'expliquer selon certains auteurs par une absence ou une discrimination partielle du parasitisme des hôtes lorsque les pontes sont rapprochées (Vinson et Iwantsch, 1980; Tena et al., 2008).

Deux possibilités pourraient expliquer la fréquence élevée du comportement infanticide. La première est que les femelles sont souvent en situation de compétition pour les hôtes et qu'elles ont plus de chance de remporter la compétition (et d'obtenir plus de gains en valeur adaptative) lorsqu'elles tentent de tuer la première couvée que lorsqu'elles ne font que pondre dans un hôte déjà parasité. Cette hypothèse est probable, car les chances de survie de la

deuxième couvée sont en général faibles, mais l'infanticide contribue parfois à sa survie comme nous l'avons démontré, ce qui pourrait être suffisant pour que le comportement persiste chez l'espèce. La seconde possibilité est qu'en nature, les femelles trichogrammes commettent plus souvent l'infanticide sur d'autres espèces compétitrices. La niche écologique des trichogrammes chevauche en effet celle d'espèces dont le développement est plus long et de taille plus grande (Yamamoto et al., 2007), et offrant de meilleures opportunités pour l'infanticide.

Le modèle de la diète optimale permet également d'envisager la façon dont les femelles trichogrammes choisissent les hôtes qu'elles vont parasiter dans un contexte de compétition intense pour les hôtes. Les délais courts entre les pontes imposés aux femelles dans cette étude se rapportent à des situations en nature où plusieurs femelles exploiteraient simultanément le même agrégat d'hôte. La probabilité pour une femelle de trouver un hôte sain diminue à mesure que les hôtes sont parasités. Le haut taux de survie de la deuxième couvée lors du superparasitisme dans de telles situations suggère que les femelles pourraient très rapidement adopter la stratégie de spécialisation étendue (Heller, 1980; Barette et al., 2010) en passant d'une préférence pour les hôtes sains à aucune préférence. En effet, comme le nombre de descendants produit par hôte est d'environ 0,9 en moyenne lorsqu'une femelle superparasite un hôte moins d'une heure après sa compétitrice, la recherche d'un hôte sain à l'intérieur de l'agrégat devient rapidement plus coûteuse que le superparasitisme en termes de taux de gain de valeur adaptative. Considérant que pondre dans un hôte sain donne en moyenne 1 rejeton et que rejeter un hôte parasité donne 0 rejeton, on peut ainsi trouver le seuil auquel les femelles changeront de préférence (figure 8).

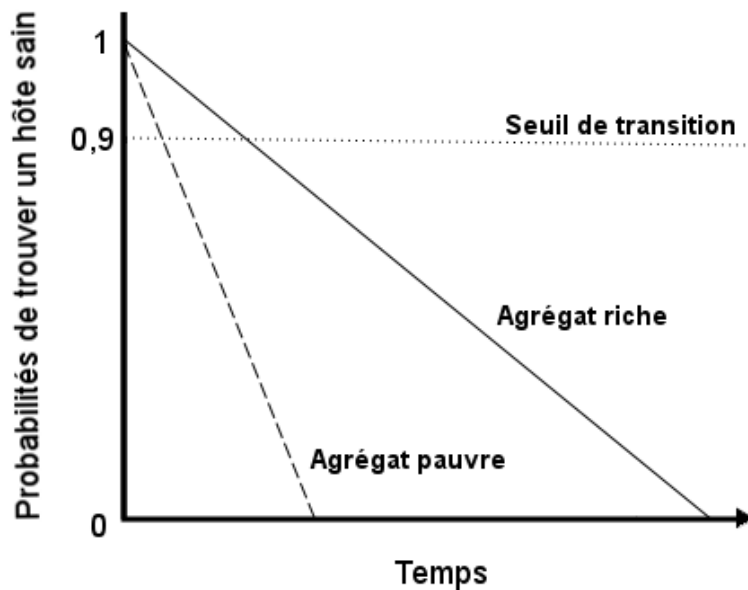


Figure 8. Probabilités d’une femelle trichogramme de trouver un hôte sain à mesure que les hôtes sont parasités dans l’agrégat. Lorsque 10% des hôtes sont parasités, la probabilité de rejeter l’hôte et d’obtenir 0 rejeton est égale à la probabilité d’obtenir un rejeton en superparasitant le premier hôte trouvé (0,9). À ce seuil, la femelle devient généraliste, tel que proposé par Heller (1980). La pente de la droite est fonction de la richesse de l’agrégat, en cohérence avec les prédictions du théorème de la valeur marginale (Charnov, 1976).

En conclusion, de nombreuses questions demeurent ouvertes suite à cette étude et il faudra approfondir davantage les recherches concernant le mécanisme d’accélération du développement des embryons en réaction à la compétition. Les femelles trichogrammes injectent des composés chimiques au moment de la ponte (Asgari et Rivers, 2011) et le rôle de ces composés n’est encore que partiellement compris. Cette avenue de recherche semble très prometteuse, car tout indique que le superparasitisme soit essentiel pour que le mécanisme d’accélération entre en action, indiquant un rôle de l’adulte dans sa mise en oeuvre. Aussi, les trichogrammes parasitent régulièrement des hôtes de taille plus importante que ceux utilisés pour cette étude et de tels hôtes permettent le développement de plusieurs individus. Il serait intéressant de vérifier si le mécanisme d’accélération du développement des embryons lié au superparasitisme s’enclenche également dans ces conditions. Finalement, les données que nous avons récoltées sur le superparasitisme permettront de mieux comprendre l’impact de la

compétition pour les hôtes chez les parasitoïdes et pourraient être considérées lors d'études en dynamique des populations.

Bibliographie

- Abdel-Latif M & Hilker M (2008). Innate immunity: eggs of *Manduca sexta* are able to respond to parasitism by *Trichogramma evanescens*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38: 136-145.
- Abram PK, Brodeur J, Burte V & Boivin G (2016). Parasitoid-induced host egg abortion: an underappreciated component of biological control services provided by egg parasitoids. *Biological Control*, 98: 52-60.
- Abrams JM, White K, Fessler LI & Steller H (1993). Programmed cell death during *Drosophila* embryogenesis. *Development*, 117: 29-43.
- Ahmad M, Ahmad MJ, Mishra RK & Sheel SK (2002). Superparasitism by *Trichogramma poliae* in the eggs of *Clostera cupreata* (Lepidoptera: Notodontidae) and its effect on offspring. *Journal of Tropical Forest Science*, 61-70.
- Angilletta Jr MJ, Steury TD & Sears MW (2004). Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. *Integrative and Comparative Biology*, 44: 498-509.
- 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: 644-645.
- Ardeh MJ, De Jong PW & van Lenteren JC (2005). Intra-and interspecific host discrimination in arrhenotokous and thelytokous *Eretmocerus* spp. *Biological Control*, 33: 74-80.
- Asgari S & Rivers DB (2011). Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host-parasite interactions. *Annual Review of Entomology*, 56: 313-335.

- Askew R & Shaw MR (1986). Parasitoid communities: their size, structure and development. Dans: *Waage, J and Greathead, D (dir.), Insect Parasitoids, 13th Symposium of Royal Entomological Society of London*. Academic Press, London. pp. 225-264.
- Atkinson D (1994). Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, 25: 1-58.
- Bach C, Hazlett B & Rittschof D (1976). Effects of interspecific competition on fitness of the hermit crab *Clibanarius tricolor*. *Ecology*, 57: 579-586.
- Bakker K, van Alphen J, van Batenburg F, van Der Hoeven N, Nell H, van Strien-van Liempt W & Turlings T (1985). The function of host discrimination and superparasitization in parasitoids. *Oecologia*, 67: 572-576.
- Barrette M, Boivin G, Brodeur J & Giraldeau L-A (2010). Travel time affects optimal diets in depleting patches. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64: 593-598.
- Beckage NE & Riddiford LM (1978). Developmental interactions between the tobacco hornworm *Manduca sexta* and its braconid parasite *Apanteles congregatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 23: 139-151.
- Beckage NE & Riddiford LM (1983). Growth and development of the endoparasitic wasp *Apanteles congregatus*: dependence on host nutritional status and parasite load. *Physiological Entomology*, 8: 231-241.
- Boivin G, Lagacé M (1999). Effet de la taille sur la fitness de *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annales de la Société Entomologique de France*, 35: 371-378.

- Boivin G & van Baaren J (2000). The role of larval aggression and mobility in the transition between solitary and gregarious development in parasitoid wasps. *Ecology Letters*, 3: 469-474.
- Boivin G & Brodeur J (2006). Intra-and interspecific interactions among parasitoids: mechanisms, outcomes and biological control. Dans: Brodeur J & Boivin G (dir.). *Trophic and guild interactions in biological control*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 123-144.
- Boivin G (2010a). Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. *Neotropical Entomology*, 39: 457-463.
- Boivin G (2010b). Reproduction and immature development of egg parasitoids. Dans: Côté FL, Parra JRP & Zucchi RA (dir.). *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 1-23.
- Boivin G & Martel V (2012). Size-induced reproductive constraints in an egg parasitoid. *Journal of Insect Physiology*, 58: 1694-1700.
- Bolhuis JJ & Giraldeau L-A (2005). The behavior of animals: mechanisms, function, and evolution. Blackwell Publishing. Oxford. 536 p.
- Both C & Visser ME (2000). Breeding territory size affects fitness: an experimental study on competition at the individual level. *Journal of Animal Ecology*, 69: 1021-1030.
- Bragg DE (1974). Ecological and behavioral studies of *Phaeogenes cynarae*: ecology; host specificity; searching and oviposition; and avoidance of superparasitism. *Annals of the Entomological Society of America*, 67: 931-936.
- Briggs CJ & Collier TR (2001). Autoparasitism, interference, and parasitoid-pest population dynamics. *Theoretical Population Biology*, 60: 33-57.

- Brockelman WY (1975). Competition, the fitness of offspring, and optimal clutch size. *The American Naturalist*, 109: 677-699.
- Brodeur J (2000). Host specificity and trophic relationships of hyperparasitoids. Dans: Hochberg ME & Ives AR (dir.). *Parasitoid population biology*. Princeton University Press. Princeton. Princeton. pp. 163-183.
- Brodeur J & Boivin G (2004). Functional ecology of immature parasitoids. *Annual Reviews of Entomology*, 49: 27-49.
- Brua RB (2002). Parent-embryo interactions. Dans: Deeming DC (dir.). *Avian incubation: behaviour, environment, and evolution*. Oxford University Press. Oxford. p. 88-99.
- Charnov EL (1976). Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, 9: 129-136.
- Charnov EL & Skinner SW (1984). Evolution of host selection and clutch size in parasitoid wasps. *Florida Entomologist*, 5-21.
- Chow F & Mackauer M (1984). Inter- and intraspecific larval competition in *Aphidius smithi* and *Praon pequodorum* (Hymenoptera: Aphidiidae). *The Canadian Entomologist*, 116: 1097-1107.
- 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: 70-75.
- Cônsoli F, Parra J & Vinson S (2000). Estimating parasitoid immature mortality by comparing oviposition and pupal development of *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. pretiosum* Riley on natural and factitious hosts. *Revista Brasileira de Biologia*, 60: 381-387.

- Cusumano A, Peri E, Vinson SB & Colazza S (2012). Interspecific extrinsic and intrinsic competitive interactions in egg parasitoids. *BioControl*, 57: 719-734.
- Dion E, Zele F, Simon JC & Outreman Y (2011). Rapid evolution of parasitoids when faced with the symbiont-mediated resistance of their hosts. *Journal of Evolutionary Biology*, 24: 741-750.
- Dorn S & Beckage NE (2007). Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. *Physiological Entomology*, 32: 199-211.
- Doyon J & Boivin G (2005). The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. *Journal of Insect Science*, 5: 4-9.
- Durocher-Granger L (2011). The effects of phenotypic plasticity on reproductive success of *Trichogramma euproctidis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). M.Sc. Thesis. McGill University. Montréal. 96 pp.
- Emlen JM (1966). The role of time and energy in food preference. *The American Naturalist*, 100: 611-617.
- Field SA & Calbert G (1999). Don't count your eggs before they're parasitized: contest resolution and the trade-offs during patch defense in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology*, 10: 122-127.
- Fisher RC (1963). Oxygen requirements and the physiological suppression of supernumerary insect parasitoids. *Journal of Experimental Biology*, 40: 531-540.

- Fournier F & Boivin G (2000). Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environmental Entomology*, 29: 55-63.
- Godfray HCJ (1987). The evolution of clutch size in parasitic wasps. *The American Naturalist*, 129: 221-233.
- Godfray HCJ (1994). Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press. Princeton. 475 pp.
- Goldberg DE & Barton AM (1992). Patterns and consequences of interspecific competition in natural communities: a review of field experiments with plants. *The American Naturalist*, 139: 771-801.
- Gorman M, Kankanala P & Kanost M (2004). Bacterial challenge stimulates innate immune responses in extra-embryonic tissues of tobacco hornworm eggs. *Insect Molecular Biology*, 13: 19-24.
- Goubault M, Fourrier J, Krespi L, Poinso D & Cortesero AM (2004). Selection strategies of parasitized hosts in a generalist parasitoid depend on patch quality but also on host size. *Journal of Insect Behavior*, 17: 99-113.
- Goubault M, Outreman Y, Poinso D & Cortesero AM (2005). Patch exploitation strategies of parasitic wasps under intraspecific competition. *Behavioral Ecology*, 16: 693-701.
- Grenier S, Basso C & Pintureau B (2001). Effects of the host species and the number of parasitoids per host on the size of some *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Science and Technology*, 11: 21-26.
- Gu H, Wang Q & Dorn S (2003). Superparasitism in *Cotesia glomerata*: response of hosts and consequences for parasitoids. *Ecological Entomology*, 28: 422-431.

- Hamilton WD (1967). Extraordinary sex ratios. *Science*, 156: 477-488.
- Harvey JA, Poelman EH & Tanaka T (2013). Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual Review of Entomology*, 58: 333-351.
- Heller R (1980). On optimal diet in a patchy environment. *Theoretical Population Biology*, 17: 201-214.
- Heslin LM & Merritt DJ (2005). Cannibalistic feeding of larval *Trichogramma carverae* parasitoids in moth eggs. *Naturwissenschaften*, 92: 435-439.
- Hopper JV & Mills NJ (2015). Consequences of infanticide for a gregarious ectoparasitoid of leafroller larvae. *Ecological Entomology*, 40: 461-470.
- Jakob EM, Marshall SD & Uetz GW (1996). Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos*, 61-67.
- Jarjees EA & Merritt DJ (2002). Development of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) host eggs. *Austral Entomology*, 41: 310-315.
- Kfir R & Rossen D (1981). Biology of the hyperparasite *Pachyneuron concolor* (Förster)(Hymenoptera: Pteromalidae) reared on *Microterys flavus* (Howard) in brown soft scale. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa*, 44: 151-163.
- Klomp H & Teerink B (1978). The elimination of supernumerary larvae of the gregarious egg-parasitoid *Trichogramma embryophagum* (Hym.: Trichogrammatidae) in eggs of the host *Ephestia kuehniella* (Lep.: Pyralidae). *BioControl*, 23: 153-159.

- Kraft TS & van Nouhuys S (2013). The effect of multi-species host density on superparasitism and sex ratio in a gregarious parasitoid. *Ecological Entomology*, 38: 138-146.
- Krebs JR & Davies NB (1997). The evolution of behavioural ecology. Dans: Krebs JR & Davies NB (dir.). *Behavioural ecology : an evolutionary approach (4th ed)*. Blackwell Publishing. Oxford. pp. 3-12.
- Luck R, Janssen J, Pinto J & Oatman E (2001). Precise sex allocation, local mate competition, and sex ratio shifts in the parasitoid wasp *Trichogramma pretiosum*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 49: 311-321.
- Luna MG, Desneux N & Schneider MI (2016). Encapsulation and Self-Superparasitism of *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck)(Hymenoptera: Braconidae), a Parasitoid of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *PloS one*, 11: e0163196.
- MacArthur RH & Pianka ER (1966). On optimal use of a patchy environment. *The American Naturalist*, 100: 603-609.
- Mackauer M (1990). Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. Dans: Mackauer M, Ehler LE & Roland J (dir.). *Critical Issues in Biological Control*. Intercept. Andover. pp. 41-62.
- Mackauer M & Chau A (2001). Adaptive self superparasitism in a solitary parasitoid wasp: the influence of clutch size on offspring size. *Functional Ecology*, 15: 335-343.
- Mackauer M & Chow F (2012). Facultative gregarious development in a solitary koinobiont parasitoid, *Ephedrus californicus*: implications of larval ecology and host constraints. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 142: 203-210.

- Magdaraog PM, Harvey JA, Tanaka T & Gols R (2012). Intrinsic competition among solitary and gregarious endoparasitoid wasps and the phenomenon of ‘resource sharing’. *Ecological Entomology*, 37: 65-74.
- Mandour NS, Mahmoud MF, Osman Ma-N & Qiu B (2008). Efficiency, intrinsic competition and interspecific host discrimination of *Copidosoma desantisi* and *Trichogramma evanescens*, two parasitoids of *Phthorimaea operculella*. *Biocontrol Science and Technology*, 18: 903-912.
- Martel V & Boivin G (2004). Impact of competition on sex allocation by *Trichogramma*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 111: 29-35.
- Martel V, Doyon J & Boivin G (2010). Partial local mate competition in the wasp *Trichogramma euproctidis*: the role of emergence sex ratio on female mating behaviour. *Ecological Entomology*, 35: 698-703.
- Maure F, Daoust SP, Brodeur J, Mitta G & Thomas F (2013). Diversity and evolution of bodyguard manipulation. *Journal of Experimental Biology*, 216: 36-42.
- Mayhew PJ (1997). Fitness consequences of ovicide in a parasitoid wasp. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 84: 115-126.
- Mayhew PJ & van Alphen JJ (1999). Gregarious development in alysiine parasitoids evolved through a reduction in larval aggression. *Animal Behaviour*, 58: 131-141.
- Milinski M., Parker GA (1991). Competition for resources. Dans: Krebs JR & Davies NB (dir.). *Behavioural Ecology, an Evolutionary Approach (3rd ed.)*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. pp. 137-168.

- Mills N (2009). Egg parasitoids in biological control and integrated pest management. Dans: CÔnsoli FL, Parra JRP & Zucchi RA (dir.). *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 389-411.
- Moiroux J, Brodeur J & Boivin G (2014). Sex ratio variations with temperature in an egg parasitoid: behavioural adjustment and physiological constraint. *Animal Behaviour*, 91: 61-66.
- Montoya P, Ruiz L, Pérez-Lachaud G, Cancino J & Liedo P (2013). Field superparasitism by *Diachasmimorpha longicaudata* attacking *Anastrepha* spp. larvae on mango fruits. *Biological Control*, 64: 160-165.
- Morin PJ (2011). Community ecology. Wiley-Blackwell. Oxford. 424 pp.
- Muratori FB, Borlee S & Messing RH (2010). Induced niche shift as an anti-predator response for an endoparasitoid. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277: 1475-1480.
- Netting JF & Hunter MS (2000). Ovicide in the whitefly parasitoid, *Encarsia formosa*. *Animal Behaviour*, 60: 217-226.
- Nicholson AJ (1954). An outline of the dynamics of animal populations. *Australian Journal of Zoology*, 2: 9-65.
- Nufio CR & Papaj DR (2001). Host marking behavior in phytophagous insects and parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 99: 273-293.
- Outreman Y, Le Ralec A, Plantegenest M, Chaubet B & Pierre J-S (2001). Superparasitism limitation in an aphid parasitoid: cornicle secretion avoidance and host discrimination ability. *Journal of Insect Physiology*, 47: 339-348.

- Pak G & Oatman E (1982). Comparative life table, behavior and competition studies of *Trichogramma brevicapillum* and *T. pretiosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 32: 68-79.
- Parker BJ, Barribeau SM, Laughton AM, De Roode JC & Gerardo NM (2011). Non-immunological defense in an evolutionary framework. *Trends in Ecology & Evolution*, 26: 242-248.
- Parra JRP (2009). Mass rearing of egg parasitoids for biological control programs. Dans: Cônsoli FL, Parra JRP & Zucchi RA (dir.). *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 267-292.
- Pennacchio F & Strand MR (2006). Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 51: 233-258.
- Pérez-Lachaud G, Batchelor TP & Hardy IC (2004). Wasp eat wasp: facultative hyperparasitism and intra-guild predation by bethylid wasps. *Biological Control*, 30: 149-155.
- Petters RM & Stefanelli J (1983). Developmental arrest of endoparasitoid wasp larvae (*Nemeritis canescens* Grav.) caused by an ectoparasitoid wasp (*Bracon hebetor* Say). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 225: 459-465.
- Pinto JD (2006). A Review of the New World Genera of Trichogrammatidae. *Journal of Hymenoptera Research*, 15: 38-163.
- Plantegenest M, Outreman Y, Goubault M & Wajnberg E (2004). Parasitoids flip a coin before deciding to superparasitize. *Journal of Animal Ecology*, 73: 802-806.

- Price PW (1970). Biology of and host exploitation by *Pleolophus indistinctus* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 63: 1502-1509.
- Pyke GH (1984). Optimal foraging theory: a critical review. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 15: 523-575.
- Querino RB, Zucchi RA & Pinto JD (2009). Systematics of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a focus on the genera attacking Lepidoptera. Dans: CÔnsoli FL, Parra JRP & Zucchi RA (dir.). *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp. 191-218.
- Reed DA, Luhring KA, Stafford CA, Hansen AK, Millar JG, Hanks LM & Paine TD (2007). Host defensive response against an egg parasitoid involves cellular encapsulation and melanization. *Biological Control*, 41: 214-222.
- Reineke A, Asgari S & Schmidt O (2006). Evolutionary origin of *Venturia canescens* virus-like particles. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 61: 123-133.
- Robert FA, Brodeur J & Boivin G (2016). Patch exploitation by non-aggressive parasitoids under intra- and interspecific competition. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 159: 92-101.
- Roitberg B, Boivin G & Vet LEM (2001). Fitness, parasitoids, and biological control: an opinion. *The Canadian Entomologist*, 133: 429-438.
- Royer L & McNeil J (1993). Male investment in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae): impact on female longevity and reproductive performance. *Functional Ecology*, 209-215.
- Rundle SD & Spicer JI (2016). Heterokairy: a significant form of developmental plasticity? *Biology Letters*, 12. DOI: 10.1098/rsbl.2016.0509.

- Salt G (1934). Experimental Studies in Insect Parasitism. II. Superparasitism. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 114: 455-476.
- Salt G (1961). Competition among insect parasitoids. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 15 :96-119.
- Schmidt O (2007). Insect immune recognition and suppression. In: Beckage NE (Ed.) *Insect immunology*. Academic Press. London. pp. 271-294.
- Silva-Torres CS, Ramos Filho IT, Torres JB & Barros R (2009). Superparasitism and host size effects in *Oomyzus sokolowskii*, a parasitoid of diamondback moth. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 133: 65-73.
- Sjerps M & Haccou P (1994). Effects of competition on optimal patch leaving: a war of attrition. *Theoretical Population Biology*, 46: 300-318.
- Maynard-Smith J (1974). The theory of games and the evolution of animal conflicts. *Journal of Theoretical Biology*, 47: 209-221.
- Smith SM (1996). Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annual Review of Entomology*, 41: 375-406.
- Sousa JM & Spence JR (2000). Effects of mating status and parasitoid density on superparasitism and offspring fitness in *Tiphodytes gerriphagus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93: 548-553.
- Speirs DC & Hubbard SF (1991). Parasitoid diets: Does superparasitism pay? *Trends in Ecology & Evolution*, 6: 22-25.

- Spencer R-J & Janzen FJ (2011). Hatching behavior in turtles. *Integrative and Comparative Biology*, 51: 100-110.
- Spicer JI & Burggren WW (2003). Development of physiological regulatory systems: altering the timing of crucial events. *Zoology*, 106: 91-99.
- Spicer JI & Rundle SD (2007). Plasticity in the timing of physiological development: Physiological heterokairy—What is it, how frequent is it, and does it matter? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 148: 712-719.
- Stephens DW, Brown JS & Ydenberg RC (2008). Foraging: Behavior and Ecology. University of Chicago Press. Chicago. 608 pp.
- Stephens DW & Krebs JR (1986). Foraging theory. Princeton University Press. Princeton. 247 pp.
- Stokkebo S & Hardy IC (2000). The importance of being gravid: egg load and contest outcome in a parasitoid wasp. *Animal Behaviour*, 59: 1111-1118.
- Strand MR & Vinson S (1984). Facultative hyperparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 77: 679-686.
- Strand MR (1986). The physiological interactions of parasitoids with their hosts and their influence on reproductive strategies. Dans: Waage J., Greathead D. (Eds). *Insect parasitoids*. Academic Press. London. pp 97-136.
- Strand MR & Godfray HCJ (1989). Superparasitism and ovicide in parasitic Hymenoptera: theory and a case study of the ectoparasitoid *Bracon hebetor*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 24: 421-432.

- Strand MR, Johnson J & Culin J (1990). Intrinsic interspecific competition between the polyembryonic parasitoid *Copidosoma floridanum* and solitary endoparasitoid *Microplitis demolitor* in *Pseudoplusia includens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 55: 275-284.
- Strand MR & Pech LL (1995). Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annual Review of Entomology*, 40: 31-56.
- Strand MR (2014). Teratocytes and their functions in parasitoids. *Current Opinion in Insect Science*, 6: 68-73.
- Sullivan DJ & Völkl W (1999). Hyperparasitism: multitrophic ecology and behavior. *Annual Review of Entomology*, 44: 291-315.
- Suzuki Y, Tsuji H & Sasakawa M (1984). Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Animal Behaviour*, 32: 478-484.
- Tagawa J (2000). Sex allocation and clutch size in the gregarious larval endoparasitoid wasp, *Cotesia glomerata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97: 193-202.
- Takasu K & Hirose Y (1988). Host discrimination in the parasitoid *Ooencyrtus nezarae*: the role of the egg stalk as an external marker. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 47: 45-48.
- Tena A, Kapranas A, Garcia-Marí F & Luck RF (2008). Host discrimination, superparasitism and infanticide by a gregarious endoparasitoid. *Animal Behaviour*, 76: 789-799.
- Trivers RL (1974). Parent-offspring conflict. *Integrative and Comparative Biology*, 14: 249-264.

- Uka D, Hiraoka T & Iwabuchi K (2006). Physiological suppression of the larval parasitoid *Glyptapanteles pallipes* by the polyembryonic parasitoid *Copidosoma floridanum*. *Journal of Insect Physiology*, 52: 1137-1142.
- van Alphen JJ & Visser ME (1990). Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 35: 59-79.
- van Baaren J, Boivin G & Nénon J-P (1995a). Intraspecific hyperparasitism in a primary hymenopteran parasitoid. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 36: 237-242.
- van Baaren J, Nénon J-P & Boivin G (1995b). Comparison of oviposition behavior of a solitary and a gregarious parasitoid (Hymenoptera: Mymaridae). *Journal of Insect Behavior*, 8: 671-686.
- van Baaren J, Boivin G, Le Lannic J & Nénon J-P (1997). The male and female first instar larvae of *Anaphes victus* and *A. listronoti* (Hymenoptera, Mymaridae). *Zoomorphology*, 117: 189-197.
- van Baaren J & Boivin G (1998). Learning affects host discrimination behavior in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 42: 9-16.
- van Baaren J, Landry B & Boivin G (1999). Sex allocation and larval competition in a superparasitizing solitary egg parasitoid: competing strategies for an optimal sex ratio. *Functional Ecology*, 13: 66-71.
- van Dijken MJ & Waage JK (1987). Self and conspecific superparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma evanescens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 43: 183-192.

- van Lenteren JC (1975). The development of host discrimination and the prevention of superparasitism in the parasite *Pseudeucoila bochei* Weld (Hym.: Cynipidae). *Netherlands Journal of Zoology*, 26: 1-83.
- van Lenteren JC (1981). Host discrimination by parasitoids. Dans: Nordlund DA, Jones RL & Lewis WJ (dir.). *Semiochemicals, their role in pest control*. John Wiley & Sons, NY. pp. 153-179.
- Vinson SB (1976). Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 21: 109-133.
- Vinson SB & Iwantsch G (1980). Host suitability for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 25: 397-419.
- Vinson SB (1990). How parasitoids deal with the immune system of their host: an overview. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 13: 3-27.
- Vinson S & Hegazi E (1998). A possible mechanism for the physiological suppression of conspecific eggs and larvae following superparasitism by solitary endoparasitoids. *Journal of Insect Physiology*, 44: 703-712.
- Visser ME, van Alphen JJ & Nell HW (1990). Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: the influence of the number of parasitoids depleting a patch. *Behaviour*, 114: 21-36.
- Visser ME, Luyckx B, Nell HW & Boskamp GJ (1992). Adaptive superparasitism in solitary parasitoids: marking of parasitized hosts in relation to the pay-off from superparasitism. *Ecological Entomology*, 17: 76-82.

- Voronezhskaya E, Glebov K, Khabarova M, Ponimaskin E & Nezlin L (2008). Adult-to-embryo chemical signaling in the regulation of larval development in trochophore animals: cellular and molecular mechanisms. *Acta Biologica Hungarica*, 59: 117-122.
- Waage JK & Lane JA (1984). The reproductive strategy of a parasitic wasp: II. Sex allocation and local mate competition in *Trichogramma evanescens*. *The Journal of Animal Ecology*, 417-426.
- Waage JK & Ming NS (1984). The reproductive strategy of a parasitic wasp: I. optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma evanescens*. *The Journal of Animal Ecology*, 401-415
- Waage J (1986). Family planning in parasitoids: adaptive patterns of progeny and sex allocation. Dans: Waage JK & Greathead D (dir.). *Insect parasitoids: 13th symposium of the Royal Entomological Society of London*. Academic Press. London. pp. 63-96.
- Wajnberg E (1993). Genetic variation in sex allocation in a parasitic wasp: variation in sex pattern within sequences of oviposition. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 69: 221-229.
- Wajnberg E (2006). Time allocation strategies in insect parasitoids: from ultimate predictions to proximate behavioral mechanisms. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60: 589-611.
- Wang Z-Y, He K-L, Zhang F, Lu X & Babendreier D (2014). Mass rearing and release of *Trichogramma* for biological control of insect pests of corn in China. *Biological Control*, 68: 136-144.
- Warkentin KM (2011). Environmentally cued hatching across taxa: embryos respond to risk and opportunity. *Integrative and Comparative Biology*, 51: 14-25.

- Wylie H (1965). Effects of superparasitism on *Nasonia vitripennis* (Walk.)(Hymenoptera: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, 97: 326-331.
- Wylie H (1971). Observations on intraspecific larval competition in three hymenopterous parasites of fly puparia. *The Canadian Entomologist*, 103: 137-142.
- Yamada YY & Miyamoto K (1998). Payoff from self and conspecific superparasitism in a dryinid parasitoid, *Haplogonatopus atratus*. *Oikos*, 209-216.
- Yamamoto D, Henderson R, Corley LS & Iwabuchi K (2007). Intrinsic, inter-specific competition between egg, egg-larval, and larval parasitoids of plusiine loopers. *Ecological Entomology*, 32: 221-228.

