

Université catholique de Louvain

École de biologie

Université de Namur

Département de biologie

---



# Le changement de couleur adaptatif chez les insectes dans le cadre du parasitisme

RYS Justine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme  
de Master en Biologie des Organismes et Ecologie

Promoteur: Thierry Hance (Earth and Life Institute – Ecology and Biodiversity)

Encadrant post-doc : Kévin Tougeron

Année académique 2020-2021



## Remerciements

Je tiens à remercier chaleureusement messieurs Thierry Hance et Kévin Tougeron pour leurs nombreux conseils et leurs recommandations en vue de la réalisation de ce mémoire. Je remercie également Pauline Gardin, doctorante au sein du laboratoire (*Earth and Life Institute*) qui m'a aidée particulièrement au bon déroulement d'une expérience centrale de cette étude. De plus, je tiens aussi à souligner l'aide précieuse que j'ai reçue de la part de Benoît Geelhand de Merxem et de Michel Pirnay, technicien du laboratoire durant toute cette année de recherche.

## Abstract

In the living world, coloration is determined by genetics but also by phenotypic plasticity. Organisms are able to adapt their colour according to the conditions of their environment, whether biotic (predation, parasitism) or abiotic (cold, ultraviolet). This master's thesis particularly focused on the colour change of mummies of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. Indeed, when these mummies result from the parasitism of *Aphelinus abdominalis*, their colorations are black while when they are from *Aphidius ervi*, they are white. The purpose of the first experiment is to characterize the colour change in a numerical way as well as the stage of the parasitoid when the melanin deposit is observed on the aphid cuticle. The modification of coloration was mainly identified nine days after parasitism for both species. One hypothesis would be that the black colour would be due to the immune defence of the host who recognised *A. abdominalis* as a foreigner. Then, a measurement of the impact of different treatments (cold, UVs and cold & UVs) on the survival, on the longevity and on the size of the parasitoids according to the colour of the mummies was carried out in order to evaluate the adaptive nature of colour. However, the hypothesis that black mummies have better resistance skills to these conditions compared to white ones has not been confirmed. Finally, the third experiment carried out is a predation test by ants. Results showed that few black mummies were found at the end of the experiment, which suggests that the *Formicidae* consume them more than the white ones. Clear mummies are therefore likely to have better camouflage ability.

## Résumé

Dans le monde vivant, la coloration est déterminée par la génétique mais également par la plasticité phénotypique. Les organismes sont capables d'adapter leur couleur en fonction des conditions de leur environnement, que ce soit biotique (prédation, parasitisme) ou abiotique (froid, ultraviolets). Ce mémoire s'est intéressé plus particulièrement au changement de couleur des momies du puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum*. En effet, lorsque ces dernières sont issues du parasitisme d'*Aphelinus abdominalis*, leurs colorations sont noires tandis que quand c'est d'*Aphidius ervi*, elles sont blanches. La première expérience menée a pour but de caractériser le changement de couleur de manière chiffrée ainsi que le stade du parasitoïde lorsque le dépôt mélanique est observé sur la cuticule du puceron. La modification de coloration a été relevée majoritairement 9 jours après le parasitisme pour les deux espèces. Une hypothèse serait que la couleur noire soit due à la défense immunitaire de l'hôte qui a reconnu *A. abdominalis* comme étant étranger. Ensuite, une mesure de l'impact de différents traitements (froid, UVs et froid & UVs) sur la survie, sur la longévité et sur la taille des parasitoïdes selon la teinte des momies a été effectuée afin d'évaluer le caractère adaptif de la couleur. Cependant, l'hypothèse que les noires ont de meilleures capacités de résistance à ces conditions par rapport aux blanches n'a pas été confirmée. Enfin, la troisième expérience réalisée est un test de prédation des fourmis. Les résultats ont montré que peu de momies noires ont été retrouvées en fin d'expérience, ce qui permet de supposer que les Formicidés les consomment davantage par rapport aux blanches. Il est donc probable que les formes claires aient une meilleure capacité de camouflage.

## Table des matières

1.	Introduction .....	1
2.	Modèle d'étude.....	12
3.	Recherche bibliographique sur les espèces étudiées .....	14
3.1.	Pucerons-hôtes .....	14
➤	<i>Acyrtosiphon pisum</i> Harris.....	14
➤	<i>Aphis fabae</i> Scopoli.....	15
3.2	Espèces de parasitoïdes utilisés.....	17
➤	<i>Aphidius ervi</i> Haliday.....	17
➤	<i>Aphelinus abdominalis</i> Dalman .....	19
➤	Comparaison entre ces deux espèces.....	20
3.3	Espèce de fourmi utilisée .....	21
➤	Descriptif bref sur les fourmis en général .....	21
➤	Descriptif spécifique à <i>Lasius niger</i> Linnaeus.....	21
4.	Contexte et description de la question de recherche .....	25
5.	Objectif et hypothèses de l'étude .....	26
6.	Matériels et méthodes.....	27
6.1	Création des élevages .....	27
6.2	Protocole expérimental N°1 – colorimétrie.....	28
6.3	Protocole expérimental N°2 – test de survie face au froid et aux UVs.....	32
6.4	Protocole expérimental N°3 – test de résistance aux prédateurs.....	35
7.	Résultats .....	40
7.1	Expérience N°1 .....	40
7.2	Expérience N°2 .....	43
7.3	Expérience N°3 .....	44
8.	Discussion .....	46
8.1	Expérience N°1 .....	46
8.2	Expérience N°2 .....	50
8.3	Expérience N°3 .....	53
9.	Conclusions et perspectives .....	55
10.	Bibliographie .....	56
11.	Annexes .....	67

## 1. Introduction

Chez les êtres vivants, il existe un polymorphisme de couleurs corporelles qui est influencé d'une part par la génétique, mais également par la plasticité en réponse aux facteurs de l'environnement (Reece and Campbell, 2012). La coloration est un trait adaptatif qui est fortement sujet au processus de sélection naturelle puisqu'elle intervient dans de multiples fonctions (Tougeron *et al.*, 2021). En effet, celle-ci joue un rôle dans les capacités de camouflage face aux prédateurs, dans l'aptitude à attirer un partenaire sexuel mais également, dans de nombreuses autres interactions avec le milieu qui entoure les organismes (Berthier, 2007 ; Duarte *et al.*, 2017 ; Tougeron *et al.*, 2021). Les modifications de coloration peuvent être réversibles ou non et nécessitent des durées de temps distinctes. Dans certains cas, il ne faut que quelques secondes comme chez la seiche. A contrario, divers espèces vivants au niveau de l'Arctique requièrent au moins quelques mois pour que le changement s'opère. La cause de cette transition vers une autre couleur est généralement pour permettre à l'individu de se fondre plus aisément dans son environnement (Duarte *et al.*, 2017). Côte *et al.* (2018) ont relevé qu'il était non négligeable de prendre en considération le contexte climatique, voire saisonnier, dans lequel l'organisme se trouve pour comprendre les changements de couleurs (Côte *et al.*, 2018). Les modifications de coloration qui dépendent des saisons seront abordées davantage dans la suite de ce travail qui se focalisera principalement sur la diapause chez les insectes.

La visualisation des couleurs dépend des longueurs d'onde ( $\lambda$ ) que la surface a absorbé/réfléchi. En effet, si celle-ci les a toutes absorbées de façon équivalente, l'objet observé sera noir. Par contre, si elle a réfléchi l'entièreté des  $\lambda$  visibles par l'œil humain, alors il paraîtra blanc. Les pigments sont des molécules connues pour jouer un rôle non négligeable dans ces processus d'absorption/réflexion (Chapman, 1998). Chez les animaux, les pigments sont subdivisés en deux classes. D'une part, il y a ceux qui sont sécrétés naturellement comme les tétrapyrroles, la mélanine et, d'un autre côté, les molécules qui proviennent de substances ingérées telles que les flavonoïdes (Chapman, 1998 ; Renoult and Valeur, 2016). Cependant, Chapman (1998) a relevé que chez les insectes qui présentent une enveloppe externe transparente, d'autres éléments tels que l'hémolymphe, les corps lipidiques ou les substances ingérées influencent la teinte (Chapman, 1998).

Chez les animaux, de nombreux types de pigments existent mais uniquement quelques-uns vont être détaillés. Tout d'abord, les caroténoïdes sont des pigments acquis par l'ingestion de nourriture (Côte *et al.*, 2018 ; Heath *et al.*, 2013). Il existe plus de 800 formes différentes de caroténoïdes et sont qualifiés comme étant solubles dans les graisses et dans les huiles absorbant généralement les radiations qui vont du bleu au vert clair (Shamim *et al.*, 2014). Cependant, la coloration varie selon l'insaturation et la structure chimique de la molécule (plus particulièrement au niveau du groupe en bout de chaîne). Chez les insectes, il semblerait que ces pigments interviennent de manière positive dans les mécanismes de défense contre la réaction d'oxydation induite par le rayonnement (Shamim *et al.*, 2014). Mais, d'autres fonctions peuvent être attribuées aux caroténoïdes comme celles concernant les propriétés internes, les caractéristiques biologiques (Figure 1) (Heath *et al.*, 2013). Côte *et al.* (2018) ont également relevé leur rôle important dans le contexte de l'immunité de l'individu. En effet, plus la quantité de ces pigments est grande, moins l'organisme est sensible/fragile aux infections pathogènes (Côte *et al.*, 2018).

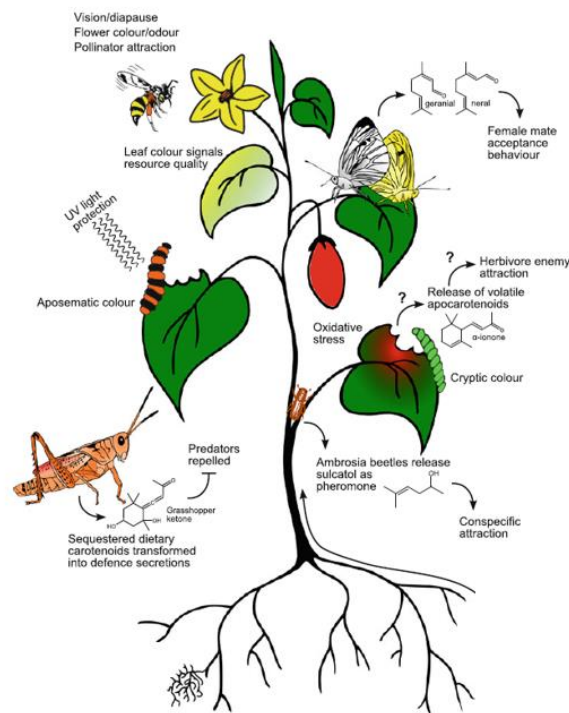


Figure 1 (Heath *et al.*, 2013) : schéma représentant les différents rôles des caroténoïdes chez les insectes. Ils seraient impliqués dans l'apparence physique de l'insecte ainsi que de ses œufs, dans la perception visuelle, dans la diapause, dans le stress oxydatif, dans la défense ainsi que dans l'attraction d'un partenaire sexuel. Enfin, ils agissent dans la protection contre les rayonnements lumineux et dans la synthèse des phéromones comme le sulcatol chez les Coléoptères (par exemple, chez *Asteromyia carbonifera*).



Ensuite, la mélanine est le nom générique utilisé pour désigner un large éventail de pigments pouvant présenter de multiples structures. Une grande majorité de ceux-ci ont des couleurs variant du noir au brun. Cependant, il en existe d'autres qui présentent des colorations allant du rouge au jaune. Au sein des espèces animales, les pigments mélaniques peuvent être séparés en deux : l'eumélanine (brun-noir) et phéomélanine (jaune-rouge). Ceux-ci proviennent de la réaction enzymatique de la tyrosinase sur la L-tyrosine (acide aminé) (Berthier, 2007 ; Solano, 2014). Au niveau structurel, ce qui distingue les deux types est la présence de soufre chez la phéomélanine (Solano, 2014). La mélanine possède de nombreuses fonctions. En effet, elle serait impliquée dans la capacité thermorégulatrice de l'organisme, dans ses défenses immunitaires, dans sa protection contre les rayons ultraviolets ainsi que dans son aptitude à se cacher face aux prédateurs (Figure 2) (Côte *et al.*, 2018 ; Solano, 2014).

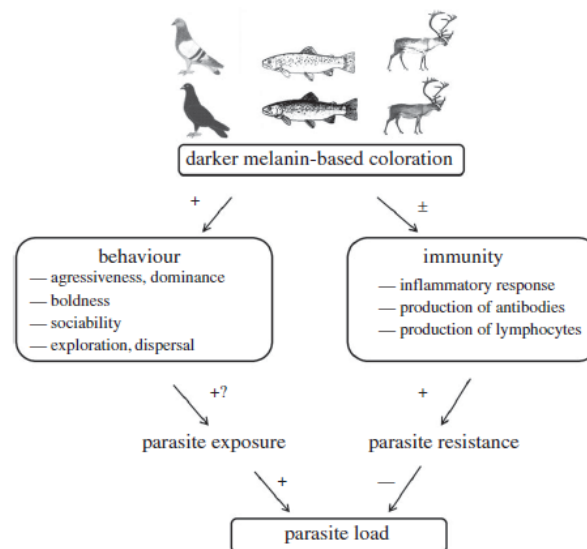


Figure 2 (Côte *et al.*, 2018) : illustration montrant l'influence de la mélanine sur le comportement (dominance, audace, sociabilité et tendance exploratrice/dispersive) et sur l'immunité. Dans le premier cas, cela va donc influencer l'exposition au parasite tandis que pour le second, cela va jouer un rôle positif dans les capacités de défense face aux infections pathogènes. La résistance et l'exposition sont deux caractéristiques qui vont moduler la charge parasitaire de l'organisme.

Chez les insectes, la mélanine peut se trouver de manière localisée sous forme de granules ou peut se répartir uniformément sur la surface externe de l'insecte. Cependant, l'agrégat mélanique confère à cet arthropode, une certaine dureté au niveau de la couche cuticulaire ainsi qu'une meilleure tolérance aux rayonnements comme les ultraviolets (Shamim *et al.*, 2014).

Dans le but de mieux comprendre les fonctions de la mélanine et son aspect contexte-dépendant, plusieurs exemples vont être détaillés dont le premier concerne le criquet *Allonemobius socius*. Ce pigment est un composant jouant un rôle non négligeable dans l'absorption des rayons lumineux et est donc fortement bénéfique pour les organismes vivants dans des milieux froids. De plus, il intervient également dans l'immunité. En effet, lorsque le

criquet se retrouve face à un pathogène, un phénomène d'encapsulation a lieu. Cela se caractérise par la formation d'un amas d'hémocytes (cellules immunitaires) entourant l'individu et est souvent suivi par un dépôt de mélanine. Cette réaction est présente chez tous les insectes. La mélanine est formée via la conversion de la L-Dopa et/ou dopamine par une enzyme nommée la phénoloxydase et induit un noircissement cuticulaire (Fedorka *et al.*, 2013).

Les résultats des expériences, réalisées par Fedorka *et al.* (2013) mettent en évidence deux points. Le premier, c'est que lorsque le nombre de degré-jour augmente, les insectes présentent une coloration moins noire de leur cuticule ; il y a donc un effet saisonnier sur la coloration des insectes. La seconde analyse a relevé une diminution de l'activité de l'enzyme jouant un rôle dans la défense immunitaire, la phénoloxydase (Figure 3). Les chercheurs suggèrent d'effectuer des recherches supplémentaires pour relever les effets de la défense des criquets dans le contexte du changement climatique. En effet, si le froid est un facteur favorisant les formes foncées des insectes pour une meilleure absorption des UV, le réchauffement global pourrait réduire l'apparition de cuticules avec de fortes concentrations en mélanine. Par conséquent, cela va agir directement sur leurs capacités de résistance (Fedorka *et al.*, 2013).

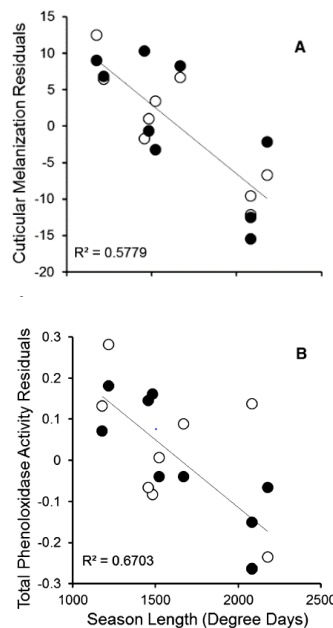


Figure 3 (Fedorka *et al.*, 2013) : graphiques montrant la relation entre la longueur de la saison et la mélanisation cuticulaire (A) et l'activité de l'enzyme phénoloxydase (B) chez le criquet *Allonemobius socius*. Les ronds noirs illustrent le sexe mâle et les blancs, les femelles.

Les changements de couleurs peuvent, comme expliqué précédemment, permettre une meilleure adaptation de l'individu à son environnement. Les recherches d'Abram *et al.* (2015) vont être décrites afin d'illustrer ce caractère adaptatif. Ces scientifiques se sont intéressés aux modifications intraspécifiques de coloration des œufs de la punaise soldat, *Podisus*

*maculiventris* (Hémiptère : Pentatomidé). Chez cette espèce, les femelles ont la capacité de sélectionner la couleur de leurs œufs afin de leur permettre une meilleure survie. En effet, ceux-ci peuvent avoir une large variété de couleurs allant du jaune clair au brun foncé/noir. Dans cette étude, ces chercheurs ont relevé que la coloration foncée était majoritaire sur la face supérieure des feuilles et la couleur claire sur la face inférieure (Figure 4A). La figure 4B montre que la probabilité d'émergence des nymphes, quand les organismes sont exposés à des fortes intensités aux UVA/B, est plus importante lorsque l'index de pigmentation est plus grand. La coloration noire permettrait donc une meilleure protection face à ce type de rayonnement. Il est cependant à noter que la face inférieure pour beaucoup d'arthropodes est un lieu de ponte permettant une meilleure protection à toute une série de facteurs environnementaux tels que la sécheresse, le vent et les précipitations. De plus, la présence de la feuille permet également une moindre exposition aux UV. Cependant, au cours de l'évolution, ces insectes n'ont pas sélectionné une face de la feuille pour effectuer leur ponte. Une hypothèse serait que la face supérieure présente, quant à elle, une pression de prédation plus faible. Ces insectes doivent donc faire face à un dilemme entre la présence de prédateurs ou l'exposition moindre aux conditions abiotiques (Abram *et al.*, 2015).

Pour résumer, Abram *et al.* (2015) ont conclu de ces différentes observations que les femelles peuvent contrôler la couleur de leurs œufs en analysant les conditions de son substrat. Effectivement, il semblerait que ce n'est pas la luminosité qui détermine la couleur mais plutôt le fait que les individus identifient le lieu de leur ponte (sur la face supérieure ou inférieure de la feuille) (Abram *et al.*, 2015). Cet exemple illustre bien le caractère adaptatif de la couleur en réponse aux conditions environnementales. D'autres scientifiques ont réalisé des expériences à la suite des résultats d'Abram *et al.* dont notamment Gaudreau *et al.* (2021). Ils se sont intéressés à l'intérêt de la pigmentation des œufs dans la résistance aux ultraviolets lors du stade nymphal. Son étude sera davantage détaillée dans la partie « discussion des tests de survie face au froid et aux UVs ».

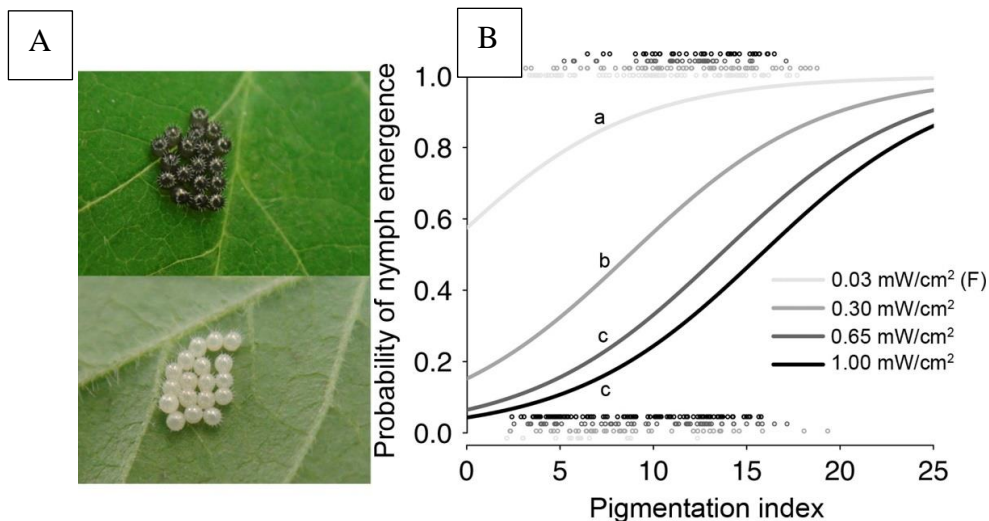


Figure 4 (Abram *et al.*, 2015) : En A, il s'agit de deux photographies montrant la variation de couleur des œufs de la punaise soldat (*Podisus maculiventris*). En haut, ce sont des œufs se trouvant sur la face supérieure de la feuille et en bas sur la face inférieure. En B, graphique montrant la probabilité d'émergence des nymphes en fonction de l'index de pigmentation (PI) selon l'intensité lumineuse aux UVA/B (0,03 ; 0,3 ; 0,65 ; 1,00 mW/cm<sup>2</sup>). Plus le PI est grand, plus l'œuf présente une coloration foncée.

Outre l'intérêt de la couleur dans la résistance aux facteurs abiotiques, elle joue également un rôle essentiel face à la pression biotique de l'environnement. Effectivement, dans le règne animal, il existe de multiples exemples montrant l'importance de la coloration pour la capture des proies ainsi que pour échapper à un prédateur ou un compétiteur (Guerra-Grenier, 2019 ; Stevens and Merilaita, 2011). Chez les insectes, différentes formes de camouflage peuvent être décrites. Tout d'abord, le crypsis correspond à une production d'œufs de la même couleur que le substrat. Il est à noter que le stade embryonnaire est fortement sujet à la prédation en raison de son immobilité. Cette technique permet donc de réduire les risques de mortalité. De plus, un autre type est la masquerade, qui caractérise le fait que l'individu ressemble à des éléments de son environnement. Enfin, le mimétisme définit un organisme qui prend une couleur afin d'être vu comme un signal (Guerra-Grenier, 2019).

En vue de mieux de comprendre ces modifications de couleur, l'exemple de la thomise variable, *Misumena vatia*, va être explicité. Une étude de Chittka (2001) a montré que ces araignées crabes sont capables de se confondre avec leur substrat afin de se rendre invisibles vis-à-vis de leurs proies. En effet, cet arachnide peut prendre une couleur jaune ou blanche en fonction de la fleur portant sa cible (abeilles, mouches et papillons) (Figure 5). Cette technique de camouflage est connue comme étant réversible (Chittka, 2001). De plus, celle-ci permet également à *M. vatia* de passer inaperçue face à des espèces prédatrices comme les oiseaux (Chittka, 2001 ; Giraud *et al.*, 2019).

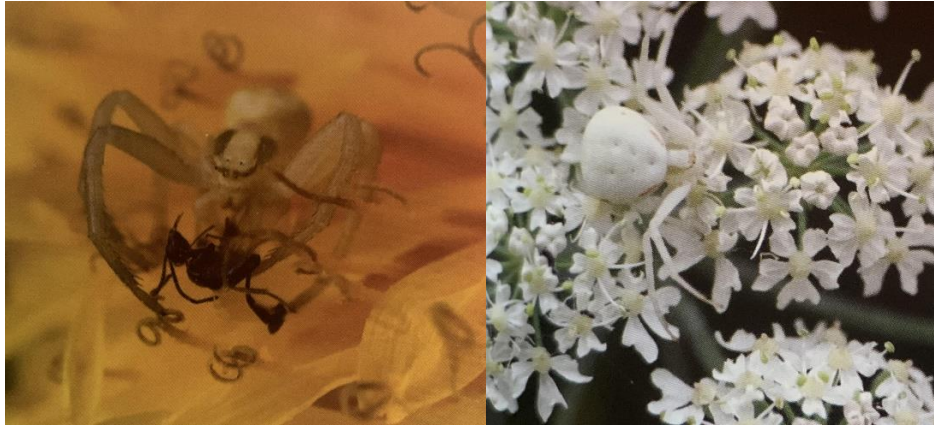


Figure 5 (Giraud *et al.*, 2019) : technique de camouflage de la thomise variable, *Misumena vatia*.

Un second exemple très connu de camouflage est la phalène du bouleau, *Biston betularia*. Ce lépidoptère a été fort étudié au XX<sup>ème</sup> siècle puisque la pollution industrielle a influencé sa coloration. En effet, lorsque cette espèce se répartissait dans des régions polluées, la forme claire (*typica*) était beaucoup sujette à de la prédation par les oiseaux notamment. La forme foncée / mélanique (*carbonaria*) a donc été favorisée puisqu'elle était moins visible sur le substrat qui avait une couleur plus sombre à cause de la pollution environnementale (Figure 6). A contrario, dans les milieux peu pollués, *B. betularia* était majoritairement présente sous la forme *typica* (Majerus, 2009 ; Stevens and Merilaita, 2011). Ceci illustre encore bien le caractère adaptatif de la couleur pour contrer les éléments biotiques auxquels l'individu fait face.



Figure 6 (Majerus, 2009) : photographie de la phalène du bouleau, *Biston betularia*. En A, il s'agit de la forme mélanique (*carbonaria*) et en B, la claire, *typica*.

Enfin, une autre interaction spécifique qui peut être responsable d'un changement de coloration est la présence d'un pathogène. L'étude effectuée par Dubovskiy *et al.* (2013) a analysé les capacités du papillon, *Galleria mellonella* à faire face aux infections du champignon, *Beauveria bassiana*. Les résultats ont montré que lorsque ce lépidoptère possède une coloration sombre, il présente une résistance plus élevée face à l'organisme fongique (Figure 7) ainsi qu'une

activité plus importante de la phénoloxydase. Une explication à cette première constatation est qu'une forte concentration en mélanine induit une action de dégradation de la cuticule du champignon (Dubovskiy *et al.*, 2013).

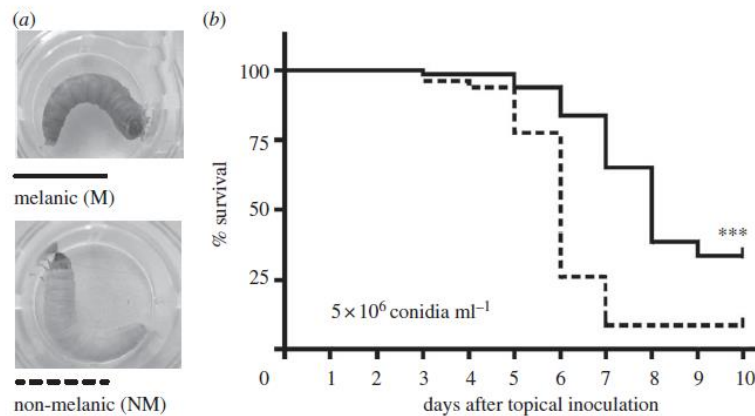


Figure 7 (Dubovskiy *et al.*, 2013) : résultats du test de survie effectué sur *G. mellonella* qui montrent un meilleur taux de survie de la forme *melanic* (M) en comparaison avec la *non-melanic* (NM) face au champignon *B. bassiana* (dose  $5 \times 10^6$  /ml).

Bien que les formes sombres aient un certain avantage contre les champignons, des perturbations physiologiques chez l'hôte peuvent être constatées notamment sur leur fécondité ainsi que sur d'autres traits de vie. Cela explique donc les raisons pour lesquelles lorsque ce papillon est fort sujet aux infections, il est fréquent de trouver plus d'individus de coloration noire. Si au contraire, la fréquence des attaques est moindre, le nombre d'individus clairs est majoritaire (Dubovskiy *et al.*, 2013). Cela illustre bien que la coloration cuticulaire chez les insectes dépend fortement du contexte environnemental biotique dans lequel ils se trouvent.

Ce travail va particulièrement s'intéresser à la plasticité phénotypique dans le cadre du parasitisme. Plusieurs études ont été effectuées sur cette thématique et les conclusions de ces modifications ne sont pas claires. En effet, dans certains cas, la couleur de l'individu peut le rendre plus sujet aux infections parasitaires. Dans d'autres cas, cela lui permet de passer plus inaperçu. Un second élément important est le caractère déterminant de la coloration dans le contexte de l'immunité. En effet, elle caractériserait les aptitudes immunitaires à combattre les parasites et les pathogènes. Enfin, les couleurs seraient de bons indicateurs de la résistance/tolérance aux modifications environnementales saisonnières et à celles liées aux changements climatiques (Côte *et al.*, 2018). La résistance se définit comme étant le mécanisme mis en place pour contrer une infection. A contrario, la tolérance est le terme employé pour illustrer les techniques de défense afin de diminuer les effets qu'elle engendre (Dubovskiy *et al.*, 2013). Il serait intéressant de savoir pourquoi de telles adaptations sont apparues au cours de l'évolution. Actuellement, peu d'informations sont disponibles sur les changements de

coloration cuticulaire dans le cadre du parasitisme. Mais, diverses études vont être présentées ci-après pour avoir une vue d'ensemble sur les connaissances actuelles. Celles-ci se consacrent à la compréhension des modifications saisonnières de coloration.

Une analyse sur le parasitoïde des pucerons, *Aphidius rhopalosiphi*, a été effectuée par Legrand *et al.* (2004) afin de voir s'il était possible de reconnaître à la simple observation de la couleur, les momies (qui sont définies comme étant l'enveloppe de l'hôte mort dans laquelle se développe un parasitoïde qui y a tissé son cocon) diapausantes ou non-diapausantes (Legrand *et al.*, 2004). La diapause se définit comme une « hibernation » des insectes et apporte des avantages bénéfiques pour les organismes tels qu'une meilleure résistance aux conditions environnementales et une réduction de la dépense énergétique. Les deux facteurs responsables de son déclenchement sont la photopériode et la température (Colinet *et al.*, 2010).

L'étude de Legrand *et al.* (2004) a voulu démontrer que les insectes qui effectuent la diapause induisent une couleur de tégument des momies très sombre. Mais, les scientifiques n'ont pas pu confirmer que la coloration foncée est le trait distinctif qui indique la diapause. En effet, la différence du temps d'émergence entre les deux types (les blanches et les foncées) est trop faible pour pouvoir conclure à la véracité de cette hypothèse. Cependant, en ce qui concerne le cocon, les auteurs ont constaté une différence d'épaisseur de manière très significative (Figure 8). Lorsqu'elle est plus importante, une meilleure couverture protectrice de l'organisme qu'il contient est observée, notamment face à la dessiccation. Les résultats obtenus montrent que les momies foncées ont généralement des cocons d'une épaisseur supérieure en comparaison aux claires (Legrand *et al.*, 2004). Il est donc probable que la coloration noire de la cuticule du puceron vienne du fait que le parasitoïde tisse un cocon plus épais pour survivre durant sa diapause hivernale.

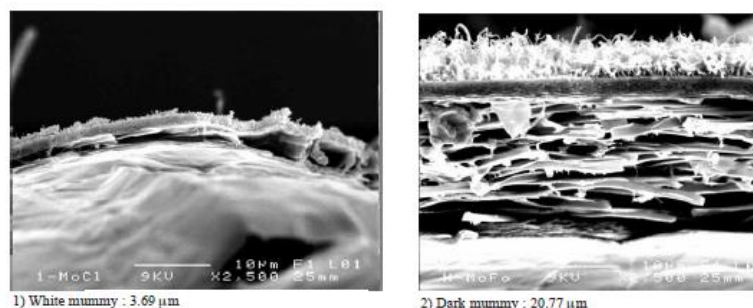


Figure 8 (Legrand *et al.*, 2004) : photographies d'une coupe transversale du cadavre du puceron des épis des céréales (*Sitobion avenae*) ayant pour but de montrer les différences d'épaisseur du cocon du parasitoïde, *Aphidius rhopalosiphi*, dans le cas des momies claires (1) et des noires (2).

Un second exemple est celui des expériences réalisées par Colinet *et al.* (2010) qui ont mis en évidence que la diapause chez le parasitoïde *Praon volucre* pouvait être induite suite à une exposition au froid. En effet, cet arrêt temporaire de développement a été identifié puisqu'une diminution du métabolisme a été relevée. En outre, les chercheurs ont remarqué que les momies de pucerons avaient une coloration plus foncée lorsque ceux-ci étaient parasités par des organismes effectuant la diapause par rapport aux parasitoïdes n'en effectuant pas. Dans cette étude, les momies ont été soumises au froid pendant une durée de 7 jours puis ont été remises sous conditions normales, c'est-à-dire à 20°C. Deux phénotypes ont été observés : clair (beige) et sombre (noir). Ce dernier n'a été constaté que dans 9 % des cas et est corrélé à une nette augmentation du temps d'émergence par rapport à la coloration plus claire, suggérant une diapause (Figure 9) (Colinet *et al.*, 2010).

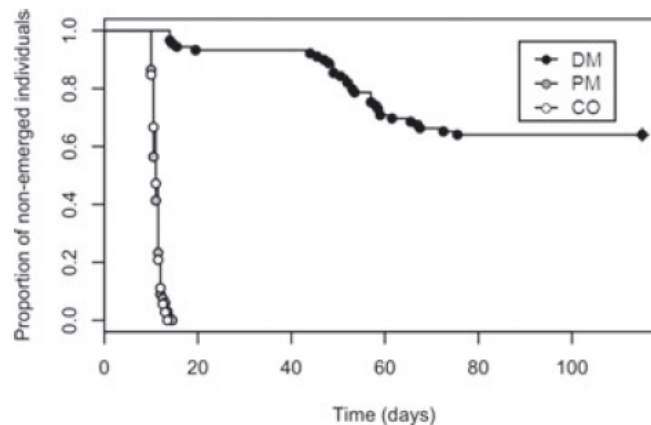


Figure 9 (Colinet *et al.*, 2010) : graphique montrant la proportion d'individus (*Praon volucre*) non émergés en fonction du temps (après momification). CO signifie contrôle, PM : momies claires et DM : momies foncées.

Toute cette littérature amène donc aux interprétations suivantes : la variabilité de couleur dans le monde animal est influencée d'une part par la génétique et, d'autre part, par la plasticité phénotypique (Reece and Campbell, 2012). Cette dernière peut être due à des interactions spécifiques comme la prédation mise en évidence chez *Misumena vatia* et chez *Biston betularia* (Chittka, 2001 ; Giraud *et al.*, 2019 ; Majerus, 2009 ; Stevens and Merilaita, 2011). Cette technique de camouflage apporte un effet positif sur le fitness de l'individu et pourrait donc être considérée comme de la plasticité adaptative. De plus, l'étude d'Abram *et al.* (2015) a expliqué le caractère adaptatif de la couleur face aux contraintes abiotiques de l'environnement (les rayons ultraviolets). Enfin, la présence de parasitoïdes influence aussi la coloration de l'hôte comme dans le cas des changements saisonniers dans l'étude de Legrand *et al.* (2004) et celle de Colinet *et al.* (2010). En effet, les momies diapausantes ont une couleur plus foncée (Colinet *et al.*, 2010). Ces différentes conclusions conduisent au sujet de ce mémoire qui porte sur les



changements de coloration des insectes dans le cadre du parasitisme et plus particulièrement celui des pucerons. De manière générale, l'objectif est de comprendre comment la coloration cuticulaire d'une espèce d'insecte peut être influencée par son interaction avec une autre espèce, c'est-à-dire par son environnement biotique.

## 2. Modèle d'étude

Les pucerons sont responsables de nombreux ravages dans les cultures agricoles à cause de leur mode d'alimentation phytophage et de la transmission de maladies aux plantes (Boivin *et al.*, 2012). Afin de réduire les dommages engendrés par ces invertébrés, de nombreuses études ont été effectuées et ont mis en évidence que leur survie est compromise en fonction de la présence de prédateurs, de maladies liées aux champignons mais aussi de parasitoïdes (El-Heneidy and Adly, 2009). Ce qui caractérise ces derniers, c'est que la larve va se développer dans / sur les pucerons jusqu'à l'émergence du parasitoïde. Pendant ou à la fin de cette phase, elle va induire inévitablement la mort de son hôte (Figure 10) (Suty, 2010). Autrement dit, cette forme d'interaction se situe entre le parasitisme (infection ne provoquant pas nécessairement la mort de l'hôte) et la prédation (qui n'implique jamais de coexistence).

Des espèces appartenant à 6 taxa majeurs effectuent cette forme de parasitisme : Hyménoptère, Diptère, Coléoptère, Névroptère, Lépidoptère ainsi que Trichoptère. Les hôtes des parasitoïdes sont majoritairement des insectes (Suty, 2010) et leurs spectres d'hôtes sont plus ou moins restreints (parasitoïdes spécialistes et généralistes) (El-Heneidy and Adly, 2009). La majorité des parasitoïdes appartiennent aux ordres des Hyménoptères et des Diptères. Environ 600 sous familles effectuent ce type d'interaction dont notamment les *Aphidiinae* et les *Aphelinidae* (Brodeur *et al.*, 2017).



Figure 10 (Viridaxis) : schéma représentant le cycle général de développement des organismes parasitoïdes.

Un bon nombre de chercheurs se sont donc penchés sur l'interaction pucerons - parasitoïdes. En effet, ces derniers sont le sujet de nombreuses discussions puisqu'ils contribuent à réduire les populations d'espèces de pucerons. Cela permettrait par conséquent de limiter les pertes de

rendement des récoltes des agriculteurs liés à ceux-ci (Hance *et al.*, 2017 ; McClure *et al.*, 2007). C'est un système de lutte biologique qui se définit comme un programme nécessitant de prendre en compte de multiples facteurs tels que les caractéristiques de l'individu, les organismes menaçant leur survie (Hance *et al.*, 2017). En général, pour choisir une espèce qui va être utilisée comme moyen de lutte biologique, certains traits sont décisifs et doivent être pris en compte. Tout d'abord, il est important qu'elle soit le plus possible spécifique aux organismes dont on souhaite réduire la population. Ensuite, la durée nécessaire pour atteindre l'état adulte doit être plus réduite que pour la proie. Dans le cas des systèmes de lutte pucerons-parasitoïdes, une synchronie au niveau de leur cycle de développement est requise car ce dernier débute sa vie dans l'hôte. Enfin, l'organisme doit avoir un taux de reproduction suffisamment élevé pour que cette technique soit efficace (Snyder and Ives, 2003).

Un autre point qui sera développé dans ce travail est la relation pucerons – parasitoïdes – fourmis. En effet, dans la littérature, les fourmis sont connues pour leur participation à de nombreuses interactions telles que la myrmécophilie (cela fait référence à un organisme qui nécessite la présence de fourmis durant son cycle de vie), la pollinisation (Kronauer and Pierce, 2011 ; Lebas *et al.*, 2016). Mais, celle qui sera davantage détaillée dans ce mémoire est la trophobie. Elle se définit comme étant une relation mutualiste où les Formicidés reçoivent des substances nutritives à partir d'autres insectes (les Hémiptères et les Lépidoptères) sans induire leur mort (Lebas *et al.*, 2016). En échange de la nourriture apportée, les fourmis leur assurent une protection face aux prédateurs (tels que les Chrysopidés, les Coccinellidés et les Syrphidés) et aux parasitoïdes (Kaneko, 2003a ; Lebas *et al.*, 2016). Au sein des Hémiptères, deux sous-ordres effectuent la trophobie : les *Auchenorrhyncha* et les *Sternorrhyncha*. Ceux-ci sont des organismes se nourrissant de la sève des végétaux qui est fortement composée d'eau et de sucre. Ces molécules se retrouvent dans les fèces et constituent le miellat dont se nourrissent les fourmis. Cependant, il est à noter que lorsque peu de proies sont présentes dans l'environnement, cette association peut tendre vers de la prédation des fourmis envers les pucerons (Lang and Menzel, 2011 ; Lebas *et al.*, 2016). En ce qui concerne l'interaction avec les parasitoïdes, l'étude de Kaneko (2003a) a mis en évidence que le comportement des fourmis face aux parasitoïdes diffère selon l'espèce. En effet, certaines d'entre-elles sont capables de supprimer le puceron parasité de la colonie. A contrario, d'autres espèces défendent l'ensemble du groupe même si des parasitoïdes ont pondu et donc protègent involontairement ces derniers des attaques de prédateurs et/ou de hyper-parasitoïdes (Kaneko, 2003a) Cela sera davantage détaillé dans la suite de ce travail.

### 3. Recherche bibliographique sur les espèces étudiées

Un descriptif général de la taxonomie ainsi que des caractéristiques des espèces étudiées seront fournis ci-dessous. Pour commencer, les pucerons (Hémiptère : *Aphididae*) utilisés sont ceux du pois, *Acyrtosiphon pisum* ainsi qu'*Aphis fabae*, plus communément nommés le puceron noir de la fève. Ensuite, deux espèces de parasitoïdes Hyménoptères qui sont *Aphidius ervi* et *Aphelinus abdominalis*. Ces deux derniers font partie de super-familles et familles bien distinctes. Le premier est classé parmi les *Ichneumonoidea Braconidae* et le second dans les *Chalcidoidea Aphelinidae*. Enfin, quelques paragraphes seront détaillés concernant *Lasius niger* qui est la fourmi noire des jardins.

#### 3.1. Pucerons-hôtes

##### ➤ *Acyrtosiphon pisum* Harris

Cet Hémiptère, plus communément appelé le puceron du pois, est classé parmi les *Aphididae* et se nourrit de sève se trouvant dans les légumineuses. *Acyrtosiphon pisum* fait partie des quinze pucerons ayant le plus d'impact sur l'agriculture et est originaire du Nord de l'Amérique (Blackman and Eastop, 2017). Il est capable de causer des dommages à n'importe quel stade de développement (Ephytia, 2014). En ce qui concerne sa morphologie, celui-ci a une taille comprise entre 2 et 5 mm (Corfdir, 2020), sa couleur peut être soit verte (Figure 11) soit rose/rouge (Corfdir, 2020 ; Blackman and Eastop, 2017). La détermination de l'une d'entre-elles, se fait par l'intermédiaire du « *single biallelic locus* » appelé *colorama*. Cependant, l'allèle vert est récessif par rapport au rose (Caillaud and Losey, 2010). De plus, selon la coloration, le puceron du pois n'est pas affecté de la même manière face à ses prédateurs et aux parasitoïdes. En effet, dans le premier cas, les morphes verts sont moins impactés que les roses tandis que dans le second, c'est l'inverse (Caillaud and Losey, 2010 ; Libbrecht *et al.*, 2007). Il est à noter que l'espèce bactérienne *Rickettsiella* peut engendrer un changement de coloration du rose au vert au cours de la vie du puceron (Ephytia, 2014 ; Tsuchida *et al.*, 2010). Cela sera davantage détaillé dans un paragraphe dans la suite de ce travail.



Figure 11 : photographie du puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* réalisée au microscope le 19 mai 2021.

En ce qui concerne sa prolifération (Figure 12) pendant la période automnale, cet *Aphididae* se reproduit de façon sexuée avec une unique génération. Tandis qu'au début du printemps jusqu'à la fin automne, sa reproduction est dite parthénogénétique, c'est-à-dire que ce puceron peut produire plusieurs générations (Caillaud and Losey, 2010). Une femelle parthénogénétique peut pondre jusqu'à 150 larves au cours de sa vie (Ephytia, 2014).

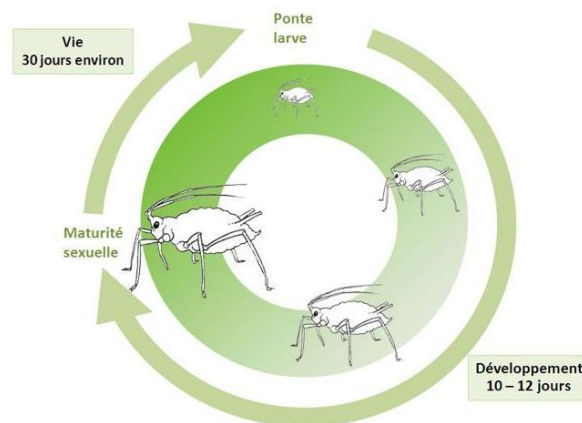


Figure 12 (Ephytia, 2014) : cycle de vie d'*Acyrtosiphon pisum* pendant la période parthénogénétique.

### ➤ *Aphis fabae* Scopoli

Cet insecte fait aussi partie des *Aphididae* et est plus communément appelé le puceron noir de la fève. Généralement, cet organisme a une taille de 2 mm et possède une coloration allant du noir mat au vert très sombre avec des lignes sur la partie abdominale du corps (Figure 13) (Corfdir, 2020). Le végétal hôte primaire peut être *Euonymus europaeus* (le Fusain d'Europe), *Viburnum opulus* (la Viorne obier) ou encore *Philadelphus sp* (les Seringats) (Ephytia, 2014). En ce qui concerne l'hôte secondaire, cet Hémiptère est connu comme étant très polyphage puisqu'il est capable de se développer sur une large variété de plantes. Des observations ont montré que ce dernier peut coloniser environ plus de 200 espèces de végétaux (Corfdir, 2020).

De plus, les agriculteurs le redoutent fortement pour les nombreux dommages occasionnés aux cultures (tournesol, fève, pomme de terre, betterave, ...). En outre, l'excrétion de miellat par *A. fabae* conduit à l'apparition de brûlures au niveau des feuilles. Sa présence aide également à la contamination par un champignon, la fumagine, qui réduit fortement les capacités photosynthétiques (Ephytia, 2014). Il est aussi vecteur de virus pour les plantes dont la jaunisse de la betterave (Limburg *et al.*, 1997).



Figure 13 : photographie du puceron noir de la fève, *Aphis fabae* réalisée au microscope le 19 mai 2021.

En ce qui concerne sa prolifération (Figure 14), le nombre d'œufs produits est généralement entre 6 et 10 mais lorsque la reproduction est asexuée, 30 larves voient le jour (Ephytia, 2014).

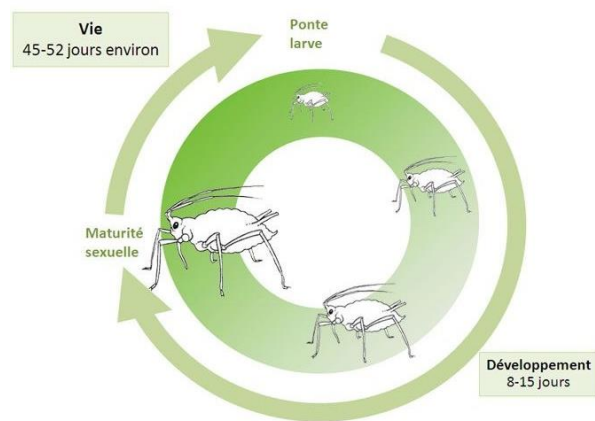


Figure 14 (Ephytia, 2014) : cycle d'*Aphis fabae* pendant la période parthénogénétique.

### 3.2 Espèces de parasitoïdes utilisés

- *Aphidius ervi* Haliday (super-famille des *Ichneumonoidea* et famille des *Braconidae*)

La super-famille des *Ichneumonoidea* est connue pour constituer un groupe important d'insectes effectuant le parasitisme. En effet, elle est fortement sollicitée pour réduire les populations d'organismes causant des dommages pour les agriculteurs. Certaines espèces peuvent nuire aux araignées mais, généralement, les cibles font partie des insectes et le plus souvent des Lépidoptères. Au sein des Ichneumonoïdes, deux familles sont distinguées, il s'agit des Ichneumonidés et des Braconidés (Chinery, 1987).

La famille qui nous intéresse particulièrement est celle des Braconidés étant donné qu'*Aphidius ervi* en fait partie. Ce groupe dénombre plus 15 000 espèces de guêpes parasitoïdes sur le globe terrestre. Cependant, ce nombre n'était qu'une évaluation de la quantité d'espèces décrites en 1988 (Quicke and van Achterberg, 1990). Ces organismes ont été historiquement subdivisés en deux classes sur base des critères morphologiques au niveau de la partie inférieure de la tête. Il s'agit des cyclostomes et des non-cyclostomes. En ce qui concerne ces premiers, ce sont généralement des ectoparasitoïdes. Tandis que pour les seconds, une grande proportion d'entre eux sont des endoparasitoïdes dont les stades immatures se logent à l'intérieur de l'hôte (Wharton, 1993).

La plupart des organismes de cette famille sont considérés comme des parasitoïdes primaires d'autres espèces d'insectes. Généralement, les cibles sont des larves de Coléoptères, de Diptères, de Lépidoptères mais aussi, dans certains cas, des Hémiptères tels que les pucerons. Chez les Braconidés, cette forme de parasitisme est observée aussi bien sur ou dans l'hôte (Ghahari *et al.*, 2009). Dans la plupart des cas, les endoparasitoïdes sont koïnobiontes, c'est-à-dire que le parasitoïde va laisser ce dernier vivre sa vie normalement pendant un certain laps de temps avant d'entraîner sa mort lors de la pupaison (Wharton, 1993). A contrario, les ectoparasitoïdes sont idiobiontes comme chez *Spathius galinae* (Yang *et al.*, 2012), ce qui signifie que la présence du *Braconidae* va provoquer directement la mort de l'hôte. Dans le cas des ectoparasitoïdes, l'infection peut être subdivisée en deux événements. En effet, chez ceux-ci, il y a la transmission d'un venin qui sera suivie par l'oviposition. A l'inverse, chez les endoparasitoïdes, ces processus se font ensemble (Wharton, 1993).

## Caractéristiques de l'espèce

*Aphidius ervi* est comme dit précédemment un parasitoïde d'espèces de pucerons (Suty, 2010) et est considéré comme endophage puisqu'il consomme son hôte de l'intérieur (Battaglia *et al.*, 2000). C'est au cours des années 1960, que cet organisme a été introduit au Nord du continent américain afin de réduire les populations européennes d'*A. pisum* (Halfhill *et al.*, 1972 ; McClure *et al.*, 2007). Les femelles d'*A. ervi* vont pondre un seul individu dans un hôte et la larve va poursuivre son développement pour, ensuite, induire la mort de l'organisme dans lequel elle vit. Enfin, le parasitoïde va se nymphoser en tissant un cocon dans le cadavre du puceron (Figure 15) (Snyder and Ives, 2003) qui deviendra ce que l'on appelle une momie. En ce qui concerne sa reproduction, les femelles qui émergent stockent environ 100 œufs dans la région abdominale de leur corps. Celles-ci sont donc tout à fait capables de les déposer dans l'hôte à cette période de leur cycle de vie. D'ailleurs, pendant les premières 72 heures qui suivent, il est important qu'elles maximisent leur ponte (Ephytia, 2014).

*Aphidius ervi* est connu pour parasiter efficacement une vingtaine d'espèces de pucerons. Une étude menée par Henry *et al.* (2005) a été réalisée afin de mieux comprendre les préférences du parasitoïde en termes d'hôtes. En effet, la qualité de ce dernier est un facteur très important puisque le développement de la larve dépend des ressources nutritives à l'intérieur de l'hôte. Les femelles parasitoïdes doivent donc pondre dans le puceron qui optimisera au plus sa prolifération. Quelques facteurs sont indispensables à prendre en compte pour comprendre le choix de celles-ci. Tout d'abord, le stade de l'hôte influence fortement la quantité de ressources en son sein (Henry *et al.*, 2005 ; Sequeira and Mackauer, 1992a). Par exemple, lorsqu'il parasite le puceron de la digitale, *Aulacorthum solani*, le deuxième stade est le plus intéressant. Effectivement, les résultats ont montré qu'une plus grande proportion de momies se formait lorsque l'oviposition s'est effectuée au stade 2 en comparaison avec le 4. De plus, le temps nécessaire pour la momification de la cuticule du puceron n'était pas identique selon les stades. La ponte sur le stade 4 avait une durée plus réduite pour la formation de momies en comparaison au deuxième (Henry *et al.*, 2005). Cependant, ces analyses varient en fonction de l'espèce de puceron et ces constatations ne sont pas des règles universelles. Un autre élément jouant un rôle primordial dans le choix de la femelle est l'importance de la taille (Henry *et al.*, 2005 ; Sequeira and Mackauer, 1992b). Celle-ci est d'ailleurs considérée comme étant un indicateur de la qualité de l'hôte. Une comparaison entre *A. solani* et *A. pisum* a montré que le temps avant la formation de momies chez ce premier ( $8,43 \pm 0,21$  jour) est donc plus long que chez *A. pisum* ( $7,30 \pm 0,06$  jour). Cela s'explique puisque le puceron de la digitale mesure environ la moitié



de la taille de celui du pois. De plus, les résultats indiquent également qu'une fois émergés, les individus présentaient également un poids supérieur lorsque leur hôte était *A. pisum* (Henry *et al.*, 2005).

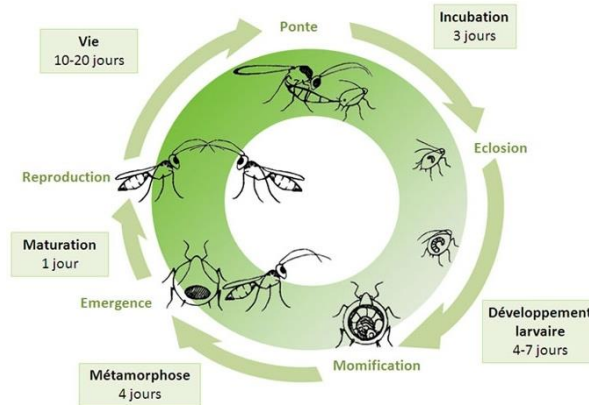


Figure 15 (Ephytia, 2014) : cycle de vie d'*Aphidius ervi*.

- *Aphelinus abdominalis* Dalman (super-famille des *Chalcidoidea* et famille des *Aphelinidae*)

Les *Chalcidoidea* représentent une super-famille qui est fortement représentée puisqu'il existe environ un million d'espèces sur terre. Ceux-ci ont des colorations tendant du bleu métallique au vert. Mais, leur observation n'est pas aisée vu leur taille fortement réduite, généralement inférieure à trois millimètres (Chinery, 1987). De nombreuses familles sont à distinguer mais seuls les *Aphelinidae* vont être principalement décrits puisque *A. abdominalis* en fait partie (Becques *et al.*, 2011 ; Chinery, 1987).

### Caractéristiques de l'espèce

Cette espèce est le second parasitoïde utilisé dans cette étude et est comme *A. ervi* un endoparasitoïde. Il s'agit d'un Hyménoptère ayant une longévité assez élevée mais son développement nécessite un temps relativement long (Figure 16). Cet insecte n'est pas spécifique d'un seul hôte en particulier puisque celui-ci est capable d'infecter plus d'une espèce de pucerons tels que *Macrosiphum euphorbiae* (plus communément appelé le puceron de la pomme de terre), *Aulacorthum solani* (le puceron de la digitale) (Ephytia, 2014), *Aphis fabae* (le puceron noir de la fève) et *Acyrtosiphon pisum* (le puceron du pois).

En ce qui concerne leur fertilité, des observations ont relevé que la présence de plusieurs œufs dans un seul hôte peut produire deux phénomènes. En effet, dans certains cas, les larves entrent en compétition les unes avec les autres et un unique vainqueur persiste. Dans d'autres, il n'y

pas de survivants et le puceron meurt aussi. Des analyses sont réalisées pour comprendre les aptitudes de ces *Aphelinidae* femelles arrivant à privilégier leurs pontes dans des hôtes n'ayant pas été déjà sujets à une attaque par un parasitoïde. Dans l'article de Becques *et al.*, de 2011, les scientifiques pensent que l'oviposition laisserait des signaux (des molécules chimiques ou des traces) indiquant qu'il est fortement probable que d'autres œufs soient déjà présents dans l'hôte (Becques *et al.*, 2011).

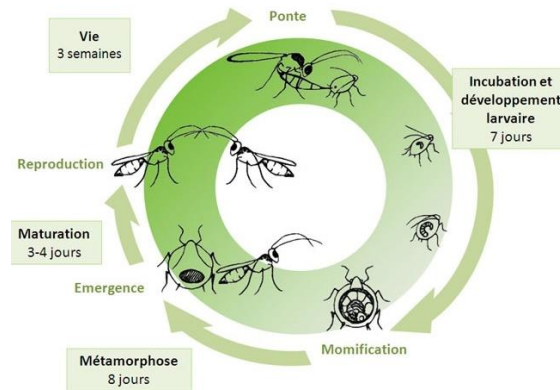


Figure 16 (Ephytia, 2014) : cycle de vie d'*A.abdominalis*.

### ➤ Comparaison entre ces deux espèces

Une étude a été réalisée par El-Heneidy and Adly (2009) en vue de déterminer l'espèce du parasitoïde par l'observation de la momie. Cette expérience s'est portée sur l'analyse d'espèces différentes de celles utilisées dans ce mémoire mais les conclusions sont généralisables pour l'ensemble des *Aphelinidae* et pour la majorité des *Aphidiidae*. Les premiers traits comparés sont la forme et la coloration du cadavre du puceron. En effet, chez les *Aphelinidae*, la momie est ovale et de couleur noirâtre. Tandis que chez les seconds, elle est plutôt ronde et beige. Une deuxième caractéristique nécessaire pour l'identification de ces Hyménoptères est l'observation du trou effectué lors de l'émergence. Pour la plupart des *Aphelinus*, la sortie de l'individu a lieu dans la partie inférieure de l'hôte. Chez les *Aphidius*, la libération de l'organisme n'est pas située à un endroit bien précis de l'abdomen (El-Heneidy and Adly, 2009). Le passage à l'état de pupa est généralement précédé par le rejet d'une substance appelée le méconium. Ce dernier peut donc être employé pour la reconnaissance de ces insectes (El-Heneidy and Adly, 2009 ; Johnson *et al.*, 1979). Effectivement, chez les *Aphelinidae*, les excréments sont ronds, plats et de coloration noire. A contrario, ceux des *Aphidiidae* sont oblongs et la couleur varie du noir au marron. Cependant, il est à noter que la détermination ne peut pas prendre uniquement en compte la quantité de déchets de méconium car ils dépendent quantitativement de l'âge de l'individu hôte (El-Heneidy and Adly, 2009).

### 3.3 Espèce de fourmi utilisée

#### ➤ Descriptif bref sur les fourmis en général

Les fourmis sont des arthropodes Hyménoptères qui comptent 16 sous-familles dont la moitié se trouve sur le continent européen (Lebas *et al.*, 2016). Les Formicidés sont considérés comme des insectes ayant une coopération sociale très développée. En effet, il y a un partage très important des informations extérieures d'un organisme aux autres. Cela peut se faire grâce au sens du toucher, de l'ouïe, de la vue, de l'odorat. L'organisation d'une colonie fonctionne principalement sur base de l'olfaction grâce aux transferts d'informations de nature chimique (Aron and Passera, 2000).

#### ➤ Descriptif spécifique à *Lasius niger* Linnaeus

*Lasius niger*, plus connue sous le nom de la fourmi noire des jardins, a une coloration variant du brun foncé au noir et sa taille est dans les environs de 2,5 à 5 millimètres (Chinery, 2012 ; Lebas *et al.*, 2016). Elle se distribue dans des régions urbaines, dans les jardins mais sa préférence d'habitat se porte sur les prairies (Lebas *et al.*, 2016).

Une étude de Lang and Menzel (2011) a été réalisée afin de mieux comprendre les interactions entre *L. niger* et différentes espèces de pucerons. En effet, la forme et l'intensité de cette relation est changeante selon les espèces impliquées (cela peut tendre vers de la prédation et non plus du mutualisme). Il est nécessaire que les fourmis sachent identifier les performances de l'*Aphididae* notamment de la quantité et de la qualité de son miellat. Cependant, lorsque les pucerons ne sont pas mis en contact avec des Formicidés, la production de cette excrétion sucrée est faible. Cela explique donc la nécessité de la reconnaissance de l'espèce de puceron par les fourmis sur des critères (autre que le miellat). Lang and Menzel ont travaillé notamment sur des modèles avec des hydrocarbures cuticulaires (CHC) propres à chaque espèce de pucerons. Le CHC est connu pour être un élément d'identification au niveau intraspécifique mais peu de chercheurs se sont intéressés à son rôle au niveau interspécifique. Les résultats ont montré que les fourmis étaient agressives lorsqu'elles étaient mises en contact avec des modèles avec CHC d'espèces de pucerons non myrmécophiles. Cependant, certaines faiblesses de l'étude ne permettent pas de conclure avec certitude que c'est le facteur qui est impliqué dans la bonne reconnaissance du partenaire pour effectuer cette forme de mutualisme (Lang and Menzel, 2011). Plus récemment, Hayashi *et al.* (2015) ont confirmé les résultats obtenus par Lang and Menzel (2011) sur la reconnaissance des espèces myrmécophiles par le biais des CHC. De plus, ils ont également mis en évidence qu'un apprentissage était nécessaire pour permettre

l'identification de l'espèce de puceron. Lors de la première mise en contact des fourmis avec les pucerons, ces premières se montrent plus agressives que si une rencontre avec des Aphididés mutualistes avait déjà été effectuée au préalable (Hayashi *et al.*, 2015).

De plus, d'autres éléments importants à noter sont que l'efficacité de la trophobie varie également au sein de la même espèce (Lang and Menzel, 2011) et aussi selon différents facteurs tels que le végétal hôte, le nombre d'individus sur la surface de la plante (Katayama and Suzuki, 2003).

En ce qui concerne la relation entre *Lasius niger* et l'espèce de puceron étudiée, plusieurs observations sur le puceron du pois ont montré que celui-ci n'est pas protégé des prédateurs et des parasitoïdes par les fourmis. Au contraire, ces dernières montrent un comportement agressif envers *A. pisum* (Hayashi *et al.*, 2015 ; Tokunaga and Suzuki, 2008). Afin de réduire la pression sélective, cet Aphididé a dû mettre en place des adaptations morphologiques. L'étude de Tokunaga and Suzuki (2008) a mis en évidence que celui-ci a une plus grande capacité de dispersion qu'une espèce de puceron effectuant de la trophobie avec les fourmis. Ceci est expliqué notamment par le fait qu'*A. pisum* possède des pattes plus longues notamment pour échapper plus rapidement à ses prédateurs / parasitoïdes. Par contre, les colonies protégées par les fourmis n'ont pas besoin de fuir. De plus, les Formicidés s'intéressent préférentiellement aux colonies avec une forte densité de pucerons (pour avoir une importante quantité de miellat) (Tokunaga and Suzuki, 2008). A contrario, *Aphis fabae* est une espèce myrmécophile qui développe des interactions régulières avec *Lasius niger* en conditions naturelles (Fischer *et al.*, 2005).

De même, il existe également plusieurs formes d'interactions possibles entre les parasitoïdes et les fourmis. Tout d'abord, toutes les espèces de fourmis peuvent avoir un comportement agressif vis-à-vis du parasitoïde. Cela s'explique à travers la relation mutualiste pucerons - fourmis. Comme expliqué précédemment, les premiers apportent aux Formicidés le miellat qui constitue une ressource alimentaire importante et plus particulièrement en glucides. En échange, ces insectes sociaux offrent une protection face aux prédateurs ainsi qu'aux parasitoïdes (Kaneko, 2003b ; Meyhöfer and Klug, 2002 ; Völkl, 1997). Ensuite, Völkl a également relevé la présence d'un tel comportement par une espèce de fourmis en particulier. Il est à noter que certaines espèces de parasitoïdes ont mis en place des mécanismes pour contrer les attaques des fourmis. D'une part, des techniques d'échappement ont été constatées, cela fait appel à des adaptations de la morphologie de l'individu (Völkl, 1997). D'autre part, des techniques dites protectives comme le mimétisme chimique ont été identifiées dans cette étude:

le parasitoïde touche le corps des Formicidés de manière à imprégner son odeur et n'est plus considéré comme étant un intrus (Hajimu and Hashimoto, 1985). Enfin, le dernier cas de figure observé est qu'aucune attitude agressive n'est présente face au parasitoïde. Dans cette situation, les fourmis ne portent pas d'attention à la sécurité des pucerons. Les parasitoïdes peuvent donc aisément pondre dans ceux-ci. Völkl discute également du fait que les différentes interactions sont cependant à nuancer étant donné que la quantité de ressource alimentaire du milieu et le végétal sur lequel les *Aphidoidea* se trouvent, sont deux facteurs influençant de manière non négligeable l'action défensive des fourmis. Cependant, il n'a pas réussi à démontrer une agression des fourmis envers les pucerons parasités ou même les momies (Völkl, 1997).

Plus récemment, Meyhöfer and Klug (2002) ont mis en évidence que les adaptations des parasitoïdes (tel que le mimétisme chimique) pour faire face à l'agressivité des fourmis leur permettent également de bénéficier d'un lieu de protection face aux autres prédateurs intraguilides (Meyhöfer and Klug, 2002). Ce phénomène (*Intraguild predation*, IGP) se définit comme une prédation d'un individu envers une espèce qui appartient à un niveau trophique identique et qui consomme les mêmes ressources (Arim and Marquet, 2004 ; Brodeur and Rosenheim, 2000). Les araignées, les coccinelles et bien d'autres, sont des espèces soit spécialistes soit les pucerons font partie de leur régime alimentaire. Ces prédateurs d'Aphididés peuvent considérer les parasitoïdes comme des compétiteurs puisqu'ils réduisent la disponibilité des ressources (Brodeur and Rosenheim, 2000). Dans cette interaction, l'IGP est dite asymétrique puisque les deux intervenants n'ont pas des capacités identiques. Le parasitoïde étant toujours en infériorité, il sera vu comme la proie. Cette thématique a d'ailleurs fait l'objet d'une expérience menée par Kaneko (2006). Ce scientifique s'est intéressé à la relation pucerons, parasitoïdes, fourmis et prédateurs, plus précisément les larves de la coccinelle, *Scymnus posticalis*. Il a utilisé deux espèces de fourmis, *Lasius japonicus* et *Pristomyrmex pungens*. Les résultats de son étude (Figure 17) montrent un effet significatif et négatif de la présence du prédateur sur le nombre de parasitoïdes qui émergent de la momie (compétition intraguilde). Ensuite, un effet de l'espèce de fourmi a été mis en évidence puisque les deux espèces utilisées n'ont pas les mêmes comportements d'agressions envers les parasitoïdes. Un plus grand nombre de parasitoïdes ont pondu dans les colonies de *P. pungens* que dans celles de *L. japonicus* puisque cette première est connue pour être moins agressive. Cela a donc permis une quantité d'émergences plus élevée. Enfin, un effet de l'interaction entre le prédateur et l'espèce de fourmi sur le nombre de parasitoïdes émergés a été constaté. La survie des parasitoïdes au stade immature est plus grande lorsqu'elles sont protégées des

prédateurs par les fourmis. Enfin, Kaneko (2006) a également discuté qu'en plus de bénéficier d'un endroit sans prédation et d'hyper-parasitisme, les fourmis offrent aux parasitoïdes une plus grande disponibilité en termes d'hôtes. Effectivement, seuls ceux adaptés aux Formicidés ne sont pas considérés comme des cibles (Kaneko, 2006).

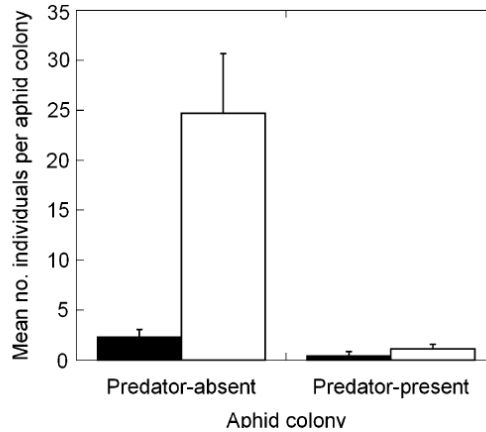


Figure 17 (Kaneko, 2006) : graphique montrant la relation entre le nombre de parasitoïdes émergents en fonction de la présence / absence du prédateur et de l'espèce de fourmis (les rectangles noircis illustrent *Lasius japonicus* et les blancs représentent *Pristomyrmex pungens*). Les barres verticales sont les écarts-types.

Kaneko (2003b) a également réalisé une expérience afin de mieux comprendre le comportement des fourmis sur les pucerons parasités et sur les momies. Pour ce faire, ce chercheur a comparé la quantité d'émergences entre des colonies de pucerons avec fourmis et des colonies « seules ». Il a constaté un nombre plus important de parasitoïdes émergents dans la première situation. Ceci lui a permis de confirmer que la présence de fourmis permettait une meilleure survie au stade immature du parasitoïde. En effet, les Formicidés leur assuraient une protection face aux hyper-parasitoïdes et d'autres prédateurs (Kaneko, 2003b).

En résumé, les interactions entre les pucerons, les parasitoïdes et les fourmis sont complexes (Figure 18) et font intervenir de nombreux facteurs qui modulent ces relations telles que l'agressivité des fourmis (envers les pucerons mais également les parasitoïdes), les adaptations des parasitoïdes, la qualité de miellat et bien d'autres.

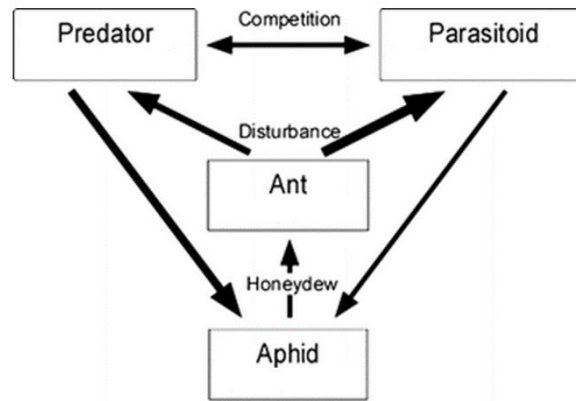


Figure 18 (modifiée à partir de Kaneko, 2006) : schéma récapitulant les différentes relations : les pucerons apportent du miellat aux fourmis qui protègent les pucerons des prédateurs et des parasitoïdes. Ces deux derniers entrent en compétition l'un avec l'autre pour la disponibilité de leurs ressources (les pucerons).

#### 4. Contexte et description de la question de recherche

La question principale de ce mémoire est de comprendre si le changement de coloration des insectes dans le cadre du parasitisme est adaptatif. Pour cela, deux espèces de pucerons ont été choisies en vue d'avoir un bon design d'expérience avec deux couleurs bien distinctes : le puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* (vert-rose) et le puceron noir de la fève, *Aphis fabae* (noir, bleu-noir). Ce premier va être utilisé tout le long de l'étude avec les espèces de parasitoïdes suivantes, *Aphidius ervi* et *Aphelinus abdominalis*. Des observations effectuées au préalable ont relevé que, dans le cas d'un parasitisme par *A. ervi*, la coloration des momies était blanche / beige tandis que, dans le cas d'un parasitisme par *A. abdominalis*, elle était plus noire, et ce chez les deux espèces de pucerons étudiées (Figure 19). Ceci est particulièrement intéressant car, selon le parasitoïde, la couleur de la momie (c'est-à-dire de la cuticule du puceron mort) va être différente.



Figure 19 : photographie réalisée le 25 mai 2021 de deux momies du puceron du pois (*Acyrtosiphon pisum*) parasitées par le parasitoïde *Aphelinus abdominalis* (à gauche) et *Aphidius ervi* (à droite).

## 5. Objectif et hypothèses de l'étude

L'objectif principal de ce mémoire est la compréhension du rôle adaptif de la coloration des momies de pucerons et l'analyse de la réponse plastique de l'hôte au parasitisme. D'une part, une partie descriptive sera réalisée avec des mesures de couleur qui permettront de caractériser les différences de manière chiffrée et d'identifier à quel moment du développement du parasitoïde s'effectue le changement de coloration du puceron parasité. D'autre part, deux tests seront effectués en vue de pouvoir évaluer l'aspect adaptatif de la modification de couleur. Le premier consistera en une comparaison de la survie des deux espèces de parasitoïdes face au froid et aux rayons ultraviolets. Chaque émergence sera donc enregistrée pour permettre de voir le nombre de survivants de la pupe à l'adulte. L'hypothèse étant qu'il y aurait une meilleure survie aux UVs pour *Aphelinus abdominalis* puisque les momies de ce parasitoïde sont noires, ce qui permet de supposer une meilleure résistance à la fois à l'exposition aux UVs comme étudié chez la punaise soldat, *Podisus maculiventris*. De plus, une survie accrue d'*A. abdominalis* face au froid est également suggérée. En effet, selon les conclusions des études de Legrand *et al.* (2004) et Colinet *et al.* (2010), les momies de pucerons sont plus foncées lorsque les parasitoïdes passent l'hiver en diapause, ce qui laisse supposer un intérêt de la couleur foncée pour une meilleure survie du parasitoïde en développement. La seconde expérience est un test de résistance aux prédateurs (les fourmis) entre les deux types de coloration des momies. L'hypothèse émise serait que les formes foncées seraient moins visibles et donc auraient plus de chances de survie grâce à leur capacité de camouflage. Le camouflage par la couleur semble apporter un effet bénéfique sur le fitness des individus qui adoptent cette stratégie, comme expliqué précédemment avec l'étude de Chittka (2001) notamment. En résumé, toutes ces manipulations auront donc pour but d'analyser la réponse plastique de l'hôte selon l'espèce de parasitoïdes qui l'a parasité.



## 6. Matériels et méthodes

### 6.1 Création des élevages

Afin de pouvoir réaliser les différentes expériences, plusieurs élevages ont été installés au préalable. Tout d'abord, des féveroles, *Vicia faba*, ont été plantées et placées dans un phytotron (température 25°C et photopériode de 16 heures de jour et 8h de nuit) afin de pouvoir nourrir les pucerons. Une ou deux graines ont été placées dans chaque pot selon la dimension de ce dernier. Une fois la culture de plantes lancée, l'élevage des deux espèces de pucerons a pu démarrer dans l'insectarium. Régulièrement, des féveroles (de plus de 7 jours) étaient apportées et arrosées. Lorsque la quantité de pucerons a été suffisante, une commande chez la société *Biobest* a été effectuée pour les deux espèces de parasitoïdes qui ont à leur tour été mis en élevage. Des vérifications régulières (environ tous les deux-trois jours) ont été nécessaires afin de surveiller le bon fonctionnement des élevages (mise en culture de nouvelles plantules toutes les semaines et une fois suffisamment poussées, apport à l'insectarium, ajout d'eau pour chacun des élevages et de miel uniquement pour les cages de parasitoïdes). Des plantes non infestées pouvaient être apportées afin d'ajouter un peu de fraîcheur aux cages avec *Aphidius ervi* et *Aphelinus abdominalis*.

En ce qui concerne, les colonies de fourmis de *Lasius niger*, elles ont été récoltées par Pauline Gardin en printemps 2020 à Louvain-la-Neuve et maintenues dans des boîtes de la récolte à l'expérience. Les bords ont été recouverts de fluon et des tubes de nids, d'eau, de sucre ont été également nécessaires.

## 6.2 Protocole expérimental N°1 – colorimétrie

Les mesures de couleur ont été faites par l'intermédiaire d'un binoculaire (*Leica S APO*) avec un objectif vidéo (*Leica 0,63x Réf. 10447367*). Des réglages ont été effectués avant chaque début de manipulation afin d'assurer une homogénéité des conditions de luminosité et de couleur (Annexe 1). Cependant, la variabilité due aux conditions lumineuses de l'environnement n'a pas pu être supprimée entièrement bien que réduite au maximum (éclairage de la pièce et fermeture des rideaux). Il est à noter qu'un essai a été effectué avec un scanner qui aurait pu diminuer fortement les nuisances extérieures. Pour réaliser ces prises, les pucerons ont été placés sur une découpe ronde de papier blanc afin d'avoir toujours les mêmes modèles d'images (Figure 20A). Ces dernières seront lues à l'aide d'un ordinateur qui sera connecté au scanner et deux programmes sont nécessaires pour l'analyse : il s'agit d'Epson scan et d'Image J (Fiji). Les résultats obtenus par cette méthode expérimentale n'ont pas été très concluants pour plusieurs raisons. Tout d'abord, la qualité de l'image n'était pas équivalente à celle obtenue avec le binoculaire (Figure 20B). En effet, même en augmentant le nombre de pixels, la netteté de l'individu n'était pas optimale. Ensuite, étant donné que les pucerons étaient vivants durant une majorité de l'expérience, ils pouvaient bouger et n'étaient donc plus visibles dans la zone définie. Enfin, la taille des fichiers était très lourde et cela a d'ailleurs engendré des problèmes lors de la lecture des scans.

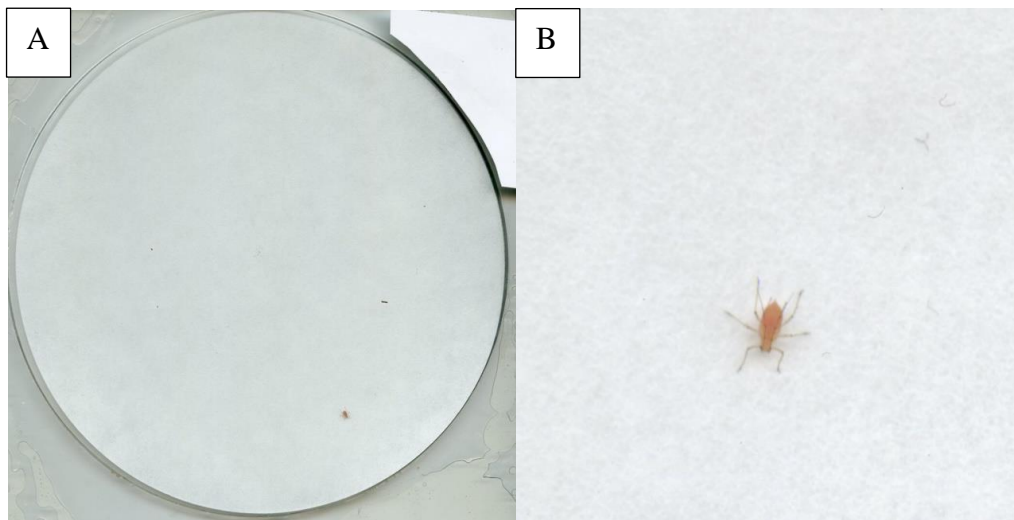


Figure 20 : essai des scans réalisés le 26 avril 2021. Le modèle utilisé pour placer le puceron dans le scanner est montré en A. En B, il s'agit du résultat obtenu lors d'une prise photographique d'un individu.

C'est pour ces raisons que l'utilisation du binoculaire a été privilégiée pour cette expérience. Une fois, les photographies prises, un enregistrement des indices colorimétriques a été effectué grâce à deux outils. Le premier est nécessaire pour retirer l'arrière-plan de l'image et se concentrer uniquement sur l'individu. Il s'agit du site internet : <https://www.remove.bg/fr>.

Ensuite, une fois le background retiré, l'image a été enregistrée et importée sur un second site qui s'intitule : *Online Image Average Color Finder* (<https://10015.io/tools/image-average-color-finder>). Il est nécessaire pour tirer différentes valeurs comme les RGB alpha (*Red Green Blue*) et les HSL alpha (*Hue*<sup>1</sup> *Saturation*<sup>2</sup> *Lightness*<sup>3</sup>). Les données de *Lightness* sont celles qui sont les plus intéressantes dans cette expérience de tests de couleur car elles désignent concrètement le pourcentage d'éloignement du noir. Autrement dit, plus cette valeur est faible, plus la coloration de l'individu se rapproche du noir.

D'un point de vue pratique (Figure 21), deux espèces de parasitoïdes ont été utilisées : *Aphidius ervi* et *Aphelinus abdominalis* ainsi que le puceron du pois, *A. pisum* et le puceron noir de la fève, *A. fabae*. La mise en contact puceron-parasitoïde a duré 24 heures et a été effectuée dans des boîtes de pétri qui ont été préparées au préalable avec une feuille de féverole au centre posée dans un produit gélifiant, l'agar-agar. Celui-ci avait une concentration de 2g / 100 ml et cela a suffi pour la réalisation de 5 boîtes. Le déroulement expérimental de la ponte a été commun pour les deux espèces de pucerons. En effet, environ 20 individus sains ont été mis avec 2-3 femelles soit d'*A. ervi* soit d'*A. abdominalis*.

Ensuite, après les 24 heures de ponte, le protocole expérimental diffère selon l'espèce de puceron. En effet, en ce qui concerne *A. pisum*, chaque puceron a été pris individuellement et placé dans les boîtes de pétri avec une feuille féverole. Des photographies ont été réalisées quotidiennement pendant 12 jours sur chaque individu. Après 6 à 7 jours, les boîtes ont été changées afin que le puceron soit continuellement sur une feuille fraîche. Dans le cas d'*A. fabae*, la survie sur boîte d'agar étant très faible, une deuxième technique a donc été envisagée. Après la mise en contact, chaque puceron a été individualisé et mis sur un plant de féverole qui était entouré d'un sachet en plastique perforé (Figure 22). Des photos ont été également effectuées tous les jours. Il est à noter qu'au cours de l'expérience, certaines feuilles ont été enlevées afin de faciliter la recherche du puceron. Le plastique a été également changé lorsque celui-ci était trop humide car il pouvait se déchirer. Ensuite, une fois l'organisme momifié, il a été placé sur une boîte de pétri (préparée comme expliqué précédemment pour *A. pisum*).

---

<sup>1</sup> Cela correspond à la couleur de l'image

<sup>2</sup> La saturation représente l'intensité de la couleur

<sup>3</sup> La luminosité informe sur la quantité de blanc et donc à l'éloignement du noir.

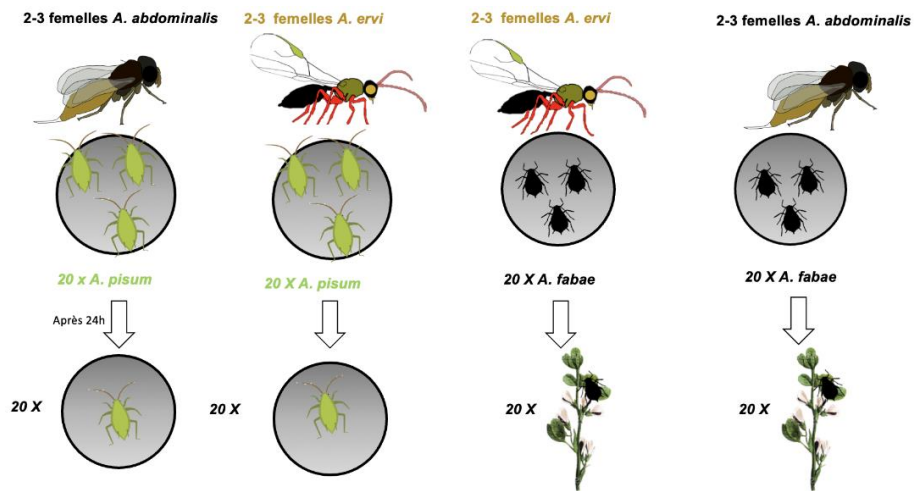


Figure 21 : schéma représentant le protocole expérimental des mesures de couleur. La partie de gauche de l'image concerne *A. pisum*, tandis qu'à droite, il s'agit de *A. fabae*. La partie supérieure correspond à l'étape de mise en contact pucerons-parasitoïdes et celle inférieure est le suivi de la colorimétrie pendant 12 jours. Les cercles représentent les boîtes d'agar. Les proportions des individus n'ont pas été respectées.



Figure 22 : photographie montrant le mode opératoire établi pour permettre le bon développement de *A. fabae*. Celui-ci se compose d'un plant de féverole âgé d'environ 9-10 jours, d'un plastique qui a été préalablement perforé pour permettre la respiration de la plante et d'un élastique. Ces deux derniers matériaux permettent d'avoir plus de chance de retrouver l'organisme sur le végétal où il a été posé.

Pour *A. pisum* et *A. fabae*, cette expérience a été réalisée plusieurs fois en vue d'obtenir 12 suivis colorimétriques de momies issues de chacune des deux espèces de parasitoïdes.

En ce qui concerne l'analyse des résultats, cela a été réalisée grâce au logiciel de programmation, R Studio. Le package « ggplot2 » a été installé au préalable pour faire des graphiques qui permettent de décrire les résultats visuellement. Ensuite, un modèle statistique a été établi et est identique pour les deux espèces de parasitoïdes. Il peut s'écrire comme suit :

$$glm(L \sim jour + I(Jour^2), data)$$

Le « L » correspond à la *Lightness* et le jour a été mis en effet quadratique étant donné que les résultats ne suivaient pas une distribution linéaire. Cela a permis de voir s'il y a oui ou non un effet de la variable explicative, c'est-à-dire le jour, sur le changement de couleur.

A la suite des résultats obtenus par les tests colorimétriques, une expérience supplémentaire a été envisagée afin d'identifier le stade larvaire d'*Aphelinus abdominalis* atteint lorsque la momie prenait sa couleur foncée. Pour cela, une boîte d'agar a été préparée avec une vingtaine de pucerons. Ceux-ci ont été mis en contact pendant 24 heures avec quatre femelles parasitoïdes. Ensuite, 9 jours post-parasitisme, les individus ont subi une dissection de leur abdomen avec deux seringues entomologiques en vue d'en sortir la larve de manière indemne. Cette dissection a été faite au binoculaire comme pour les tests colorimétriques et les organismes ont été posés individuellement sur des lames à cavité centrale creuse. Une quinzaine d'individus ont donc été disséqués puisque de multiples essais ont été nécessaires pour ne pas tuer la larve lors de la sortie de l'abdomen d'*A. pisum*. Quelques photos-vidéos ont été réalisées dans le but d'illustrer le stade de l'individu.

### **6.3 Protocole expérimental N°2 – test de survie face au froid et aux UVs**

Pour effectuer ce test de survie, deux incubateurs ont été conditionnés en fonction du traitement à appliquer. Un témoin (20°C) et 3 traitements ont été testés sur les individus : un à 20°C avec UVs, un à 13°C sans UVs et enfin le dernier à 13°C avec UV. Les UVs ont été délivrés directement dans les incubateurs par des LED en bande 5050 60 LED/m – longueur d'onde : 370nm (Buyledstrip, Geldrop, Pays-Bas).

D'un point vue pratique, un lot d'environ trente pucerons a été exposé aux parasitoïdes et placé dans une cage pendant 48h. Après ces deux jours, les parasitoïdes ont été retirés et des observations quotidiennes ont été réalisées en vue de recueillir les momies dès qu'elles se sont formées. Le but était d'obtenir au minimum 10 momies par cage. Pour chaque espèce, 5 répliques de minimum 10 momies pour chacun des 4 traitements ont été obtenus (Figure 23). Une fois les pucerons momifiés, ils ont été mis individuellement dans des eppendorfs et placés dans l'incubateur. Un identifiant a été attribué pour chacun d'entre-eux. Différentes données ont été enregistrées en vue de suivre la survie du parasitoïde du stade immature jusqu'à l'adulte. Tout d'abord, le jour de la mise en contact avec les femelles parasitoïdes, mais aussi la date de momification a été recueillie et enfin le moment auquel le parasitoïde a émergé. A noter que pour le bon développement de ce dernier au stade adulte, un petit morceau d'ouate humide avec un peu de miel a été ajouté et coincé dans le bouchon de l'eppendorf (dans lequel, un petit trou a été effectué pour avoir une rentrée d'air). Ensuite, des analyses de longévité des adultes ont été réalisées afin de voir s'il y a une distinction sur ce trait d'histoire de vie. Pour ce faire, il suffisait de vérifier quotidiennement la survie de l'individu. Une fois mort, sa durée de vie a été calculée et sa taille mesurée. Pour récolter cette dernière donnée, une dissection de la troisième paire de pattes de l'organisme a été nécessaire grâce à deux pinces entomologiques. Celle-ci a permis de visualiser correctement le tibia et de le mesurer (Figure 24). Il est également à noter que la taille du tibia de la momie a été aussi prise afin de ne pas impacter les résultats par le stade de vie de l'hôte. Les deux mesures ont été réalisées grâce à un binoculaire à objectif vidéo. En effet, un outil de calibration a été utilisé pour régler l'échelle avec le zoom choisi (1,6).

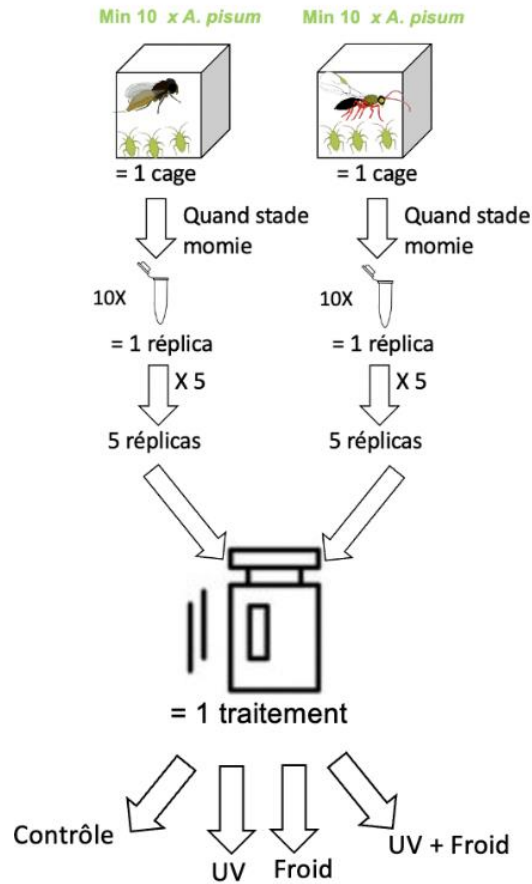


Figure 23 : schéma représentant le protocole expérimental des tests de survie face au froid et aux UV. Une trentaine de pucerons ont été placés dans une cage avec 2-3 femelles de parasitoïdes afin d’avoir un minimum de 10 momies. Ces dernières ont été mises dans des eppendorfs et constituaient un réplica. Pour chaque espèce de parasitoïde, 5 réplicas (donc minimum 50 momies au total) ont été réalisés pour chaque traitement (contrôle (20°C), UV (20°C), froid (13°C) et UV & froid).

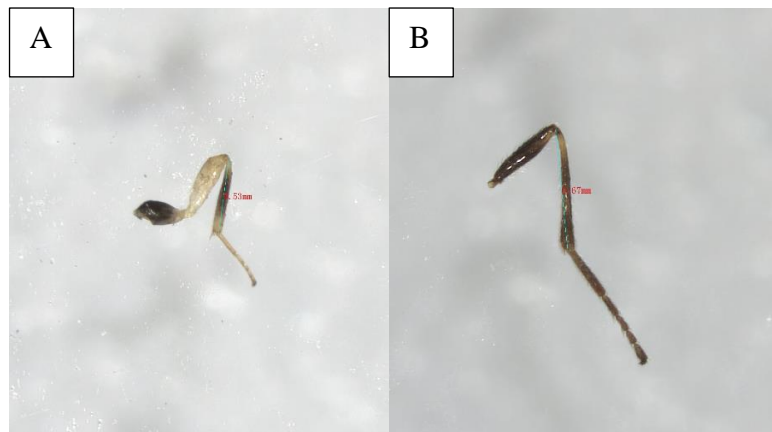


Figure 24 : photographies montrant la troisième patte du parasitoïde *Aphelinus abdominalis* (A) et *Aphidius ervi* (B). La valeur indiquée en couleur est une mesure du tibia.

Lorsque la récolte des données a été terminée, une analyse de celles-ci a été effectuée grâce au logiciel R pour créer des modèles et obtenir quelques graphiques illustratifs. L’analyse a été subdivisée en 3 parties.

Tout d'abord, il y a eu un traitement du pourcentage d'émergence selon les conditions auxquelles les momies ont été exposées. Cela a été fait par la réalisation d'un GLM en considérant que les données suivaient une distribution de type binomial. Il a été nécessaire de créer un vecteur « y » qui a rassemblé le nombre d'individus émergés et la quantité totale d'organismes pour chaque réplique de chaque traitement. Le modèle a pu donc s'écrire comme suit :

$$glm(y \sim jour * traitement, family = binomial)$$

Ensuite, le deuxième volet concerne les mesures de tibia. Un coefficient de corrélation (sur *Excel*) a été obtenu afin d'identifier la relation entre la taille de tibia du parasitoïde et le stade de l'hôte. De plus, la somme des valeurs de taille pour les parasitoïdes ainsi que celle des momies a été calculée pour avoir un ratio moyen. Ce dernier a permis de remplacer la valeur des NA (*Not Available*) pour les momies où la prise de mesure n'avait pas pu être effectuée en calculant le rapport de la taille de tibia du parasitoïde sur le ratio moyen. En ce qui concerne le modèle, il s'agissait ici d'un GLMER (modèle linéaire généralisé à effet mixte) de type gaussien du ratio en fonction du traitement (contrôle, froid, UV & froid + UV). Le groupe a été considéré comme effet aléatoire puisque certains individus étaient issus du même essai. Pour faire cette analyse, le package « car » a été requis. Le modèle s'est écrit comme ceci :

$$glmer(ratio \sim traitement + (1|groupe), family = gaussian)$$

De plus, afin de comparer les différents traitements, un test posthoc de Tukey a été réalisé. Pour cela, il a été nécessaire d'installer le package « emmeans » et les fonctions « emmeans » et « pairs » ont été utilisées.

Enfin, en ce qui concerne les analyses de longévité (=time), elles ont été effectuées via la création de modèle de Cox<sup>1</sup>. Le package « survival » a été utilisé et une courbe a été obtenue pour chaque traitement. Afin d'avoir les valeurs statistiques<sup>2</sup>, la fonction « coxph » a été utilisée.

1. *survfit (Surv (time, status) ~ traitement, data = donnees)*

2. *coxph (formula = Surv (time, status) ~ traitement, data = donnees)*

*NB* : Une colonne « status » a dû être ajoutée dans le document *Excel* avec uniquement des valeurs 1 (cela correspond au statut patient dans les études cliniques. Dans cette situation, tous les parasitoïdes sont morts à un moment donné).



#### 6.4 Protocole expérimental N°3 – test de résistance aux prédateurs

Le prédateur de parasitoïde utilisé dans cette expérience est la fourmi noire des jardins, *Lasius niger*. Afin d'évaluer le rôle de la pigmentation des momies dans les capacités de camouflage, des relevés quotidiens ont été réalisés pendant 4 jours. D'un point de vue pratique (Figure 25), cela consistait à placer un plant avec 15 momies blanches issues du parasitisme d'*A. ervi* et un autre plant avec 15 momies noires d'*A. abdominalis* fournies par *Biobest* pour une question de facilité (l'espèce d'hôte n'est pas connue). De plus, 15 pucerons sains étaient également présents sur ces deux végétaux. Pour chaque réplique, 500 ouvrières ont été utilisées puisque dans les conditions naturelles, ces insectes vivent en colonie. Pendant 4 jours, le nombre de momies présentes sur les plants a été enregistré. Cela a permis d'effectuer une comparaison du taux de prédation/nettoyage entre les momies blanches et les noires. Huit répliques ont été réalisées avec huit colonies différentes pour minimiser le risque d'apprentissage des fourmis. Cette expérience a été effectuée deux fois.

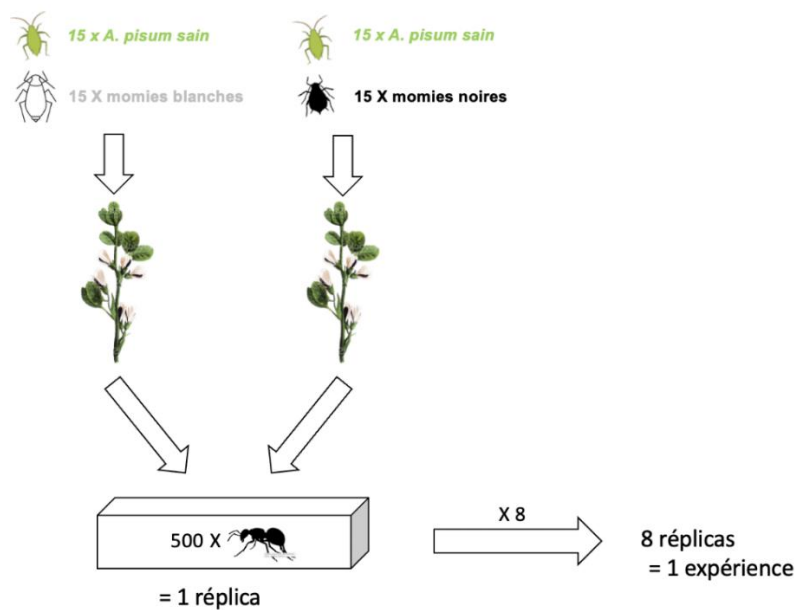


Figure 25 : schéma expérimental du test de résistance aux prédateurs. Deux plants de féveroles ont été placés dans un bac de 500 fourmis : l'un avec 15 pucerons (*A. pisum* sains) et 15 momies blanches (issues du parasitisme d'*A. ervi*), l'autre avec 15 pucerons sains et 15 momies noires (issues du parasitisme d'*A. abdominalis*). Cela constituait un réplique. 8 colonies de fourmis (*Lasius niger*) ont été utilisées et représentaient une expérience.

En ce qui concerne le protocole expérimental (Figure 26), différents éléments et étapes ont été nécessaires. Tout d'abord, les bords des bacs utilisés dans cette manipulation ont été recouverts de fluon pour éviter la dispersion des fourmis. C'est également le cas pour les deux fonds de bouteille en plastique qui recouvraient les pots des plants de féveroles. Ces derniers ont été nécessaires pour fournir l'eau indispensable à la plante qui était âgée de plus de deux semaines.

Tous les deux jours, une quantité d'eau a été ajoutée. La tige de ces plantes a été maintenue droite afin d'éviter que les pucerons ne se déplacent en dehors du bac et contaminent les autres élevages. Ensuite, la surface des pots a été recouverte de deux demi-cercles de bois assemblés à l'aide d'un anneau de serrage pour éviter que les fourmis ne colonisent le terreau. Pour finaliser, une construction de parafilm a été placée pour sceller le couvercle en bois sur le pot en plastique. De plus, trois ponts ont été élaborés avec du papier plume dont deux pour permettre le déplacement des fourmis du fond du bac vers les plants et le troisième pour qu'elles puissent passer d'un plant à l'autre. En outre, de multiples tubes d'élevage ont été posés dans les bacs dont deux grands pour le nid. Ceux-ci étaient composés de 10 ml d'eau déminéralisée et un morceau de coton pour que l'eau ne coule pas. Ils ont été recouverts de filtre rouge et une attache trombone était ajoutée afin de maintenir les tubes à un endroit fixe dans le bac une fois posés. Il est à noter qu'un code couleur a été établi afin de pouvoir distinguer les différents contenants. Concernant les apports indispensables au bon développement de ces insectes, quatre petits tubes ont été également placés dont deux fournissaient uniquement de l'eau (10 ml) et deux avec de l'eau sucrée. Enfin, une petite boîte de pétri avec 4 vers de farine (qui ont été coupés en 3) était également présente pour apporter les protéines nécessaires à leur bon développement.

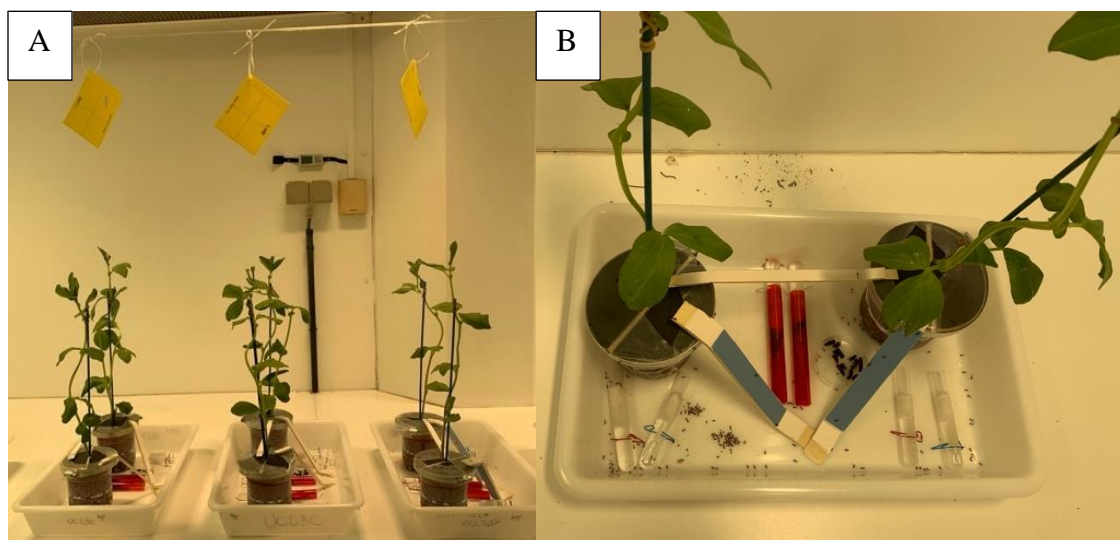


Figure 26 : photographie du *set up* expérimental réalisé le 27 octobre 2021 (lors du premier round de cette expérience). En A, il s'agit de la structure générale des 8 répliques et en B, une vue plus précise du contenant de chaque boîte avec la disposition associée des différents éléments.

Concernant le premier round, les différents relevés qui ont été réalisés quotidiennement sont : le nombre de momies sur le plant 1, le nombre de momies sur le plant 2, le nombre de momies blanches dans le fond de la boîte, le nombre de noires dans le fond, l'heure à laquelle le relevé a été effectué, la date ainsi que d'éventuels commentaires tels que sur la position de la momie

ou le regroupement. De plus, une mesure de l'activité a été également enregistrée. Pour cela, à une heure fixe (+ ou – deux heures), un comptage du nombre de fourmis se trouvant dans le fond de la cage et le nombre présent sur chacun des végétaux (plant 1 et plant 2) a été effectué. Ce facteur pourrait contribuer à une donnée supplémentaire pour l'interprétation de la variabilité entre les réplicas.

A la suite du premier essai de ce design expérimental, ce round a plutôt été considéré comme expérience pilote et ce pour plusieurs raisons. Tout d'abord, un problème majeur au niveau du *set up* a été relevé. En effet, afin d'éviter une dispersion des parasitoïdes qui émergeaient, une construction en tulle a été suspendue au-dessus de chaque réplica. Cette technique était bien réfléchie pour éviter au mieux une contamination des élevages voisins. Cependant, lors des relevés quotidiens, ce montage s'est avéré compliqué à gérer étant donné que les momies ne sont fixées qu'avec une goutte d'eau sur les feuilles de féveroles, il est donc très facile de les faire tomber. Celles-ci peuvent donc se retrouver dans le fond de la boîte sans être la conséquence du déplacement volontaire des fourmis. Elles peuvent également basculer hors du *set up* expérimental et seraient donc considérées comme détruites par les fourmis. Pour remplacer les tulles et éviter la dispersion des parasitoïdes, des pièges collants ont été placés au-dessus de chaque réplica.

De plus, le comportement des fourmis envers les pucerons et les momies n'a pas été exactement comme imaginé au préalable. Il est à noter que l'attitude des *Formicidae* envers ces derniers était très peu documenté dans la littérature. Une adaptation dans la prise des résultats a donc dû être réalisée. Effectivement, il était attendu que ces insectes sociaux consomment les momies, mais un déplacement volontaire des pucerons momifiés vers le cimetière a été également observé. Cela a fait donc l'objet d'une mesure lors du deuxième essai. Cette constatation a donc soulevé une seconde question : « Est-ce que les fourmis consomment ne serait-ce que partiellement les momies avant le dépôt dans le cimetière ? » « Est-ce que cela entrave la survie du parasitoïde ? ». Afin de répondre à ces deux interrogations, lors du dernier jour d'expérience, une récolte de la totalité des cuticules des individus trouvés a été effectuée et placée dans un eppendorf pour chaque réplica. Ensuite, après 24h, le nombre d'émergences a été noté et des photographies ont été réalisées à l'aide du binoculaire.

En outre, pour certains réplicas, les colonies ont mis en place leur cimetière en dessous des fonds de bouteille. Il était donc nécessaire de lever le dispositif avec la plante pour pouvoir l'observer. Cela générerait un mouvement des feuilles et entraînerait donc des risques de chute des momies. Afin de contrer cela, une boîte de pétri (fixée avec du scotch) a été placée en dessous

de chaque fond en plastique pour avoir une surface plate (Figure 27) et pour empêcher tout mouvement des fourmis en dessous du plant.

Enfin, le dernier problème rencontré dans ce premier round est la colonisation du terreau par les fourmis. La structure avait été conceptualisée de manière à éviter tout risque de déplacement de la colonie mais pour certains répliques, cela ne les a pas empêché d'y aller. Une importante diminution de l'activité était à noter et cela a donc généré de la variabilité entre les répliques. Il a été nécessaire de séparer les fourmis de la terre afin de pouvoir les réutiliser pour le second round expérimental. Cependant, cette étape a généré une perte importante de ces insectes et constitue une des raisons pour laquelle seulement 4 colonies de 500 ont pu être reformées pour la deuxième expérience. ; Les 4 autres sont des fourmis n'ayant jamais été mises en contact avec les momies et les pucerons. ; D'un point de vue pratique, la seule solution pour prévenir une colonisation du terreau est de renforcer la structure, c'est-à-dire une couche supplémentaire de parafilm (deux au lieu d'une) et une de film alimentaire attaché avec un élastique entre le pot et la structure en bois (Figure 27).

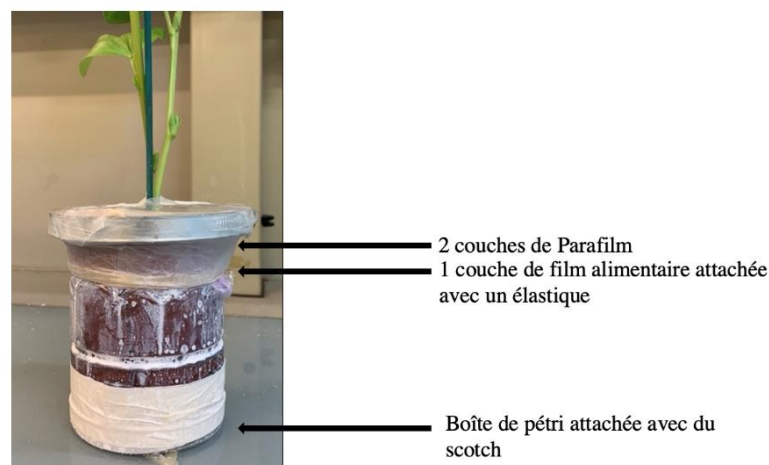


Figure 27 : photographie du design expérimental utilisé lors du deuxième essai afin d'éviter que les fourmis placent leur cimetière en dessous des pots. La seconde adaptation nécessaire est pour les empêcher de coloniser le terreau comme lors du premier round.

En conclusion, ces problèmes ont été considérés comme des facteurs pouvant générer une forte variabilité dans les résultats, c'est pourquoi cet essai a été considéré comme expérience pilote. Il a permis de mettre en place des mesures afin de minimiser les « bruits parasites » au bon déroulement de l'étude de l'interaction pucerons-fourmis-momies.

Le traitement des données a été subdivisé en trois parties pour une question de facilité. Tout d'abord, une comparaison du nombre de momies résiduelles (blanches et noires) sur chaque plant a été effectuée. Elle a été suivie par une analyse des observations quantitatives des momies

présentes dans le cimetière en fonction de la coloration. Enfin, le nombre de momies retrouvées en fin d'expérience a été comparé selon la couleur.

Dans les deux premières parties, quelques modèles ont été testés afin d'identifier celui qui correspondra le mieux au jeu de données. En l'occurrence, il s'agit ici d'un GLMER. Dans la première situation, la variable réponse est le nombre de momies sur les plants (*nbremomie*) et dans la deuxième, c'est la quantité se trouvant dans le cimetière (*nbrcim*). En ce qui concerne les variables explicatives, elles sont identiques dans les deux cas et sont au nombre de trois : le jour (qui a été considéré comme une variable continue), la couleur (qui a donc deux niveaux : blanc ou noir) et l'interaction entre ces deux facteurs. Un autre élément nécessaire, c'est l'ajout de l'effet aléatoire qui est l'identité de la colonie de fourmis (abrégié par le terme « boîte »). Chacune est indépendante des autres et c'est la raison pour laquelle le modèle mixte a été choisi. Deux remarques sont importantes. Tout d'abord, dans les données, le jour 0 a dû être rapporté en indiquant que la quantité de momies sur les végétaux au départ était de 15 pour les deux couleurs. Ensuite, les modèles testés au préalable étaient fortement impactés par la grande proportion de valeur 0. Pour contrer cela, le package « MASS » a été installé et le *negative binomial* (*nb*) a permis de réduire l'influence des données nulles. En résumé, les deux tests qui ont été effectués sont :

1. *glmer.nb* (*nbremomie* ~ *jour* \* *couleur* + (1 | *boite*), *data* = *fourmis*)
2. *glmer.nb* (*nbrcim* ~ *jour* \* *couleur* + (1 | *boite*), *data* = *fourmis*)

Le package « car » a été aussi requis afin de pouvoir avoir les valeurs d'Anova et le « sjPlot » pour pouvoir visualiser les résultats de manière graphique via la fonction *plot\_model*.

Enfin, un test de Student a été effectué afin de voir s'il avait une différence du nombre de momies retrouvées (somme du nombre de momies résiduelles sur les plants et dans le fond de la boîte) en fin d'expérience en fonction de la couleur.

## 7. Résultats

### 7.1 Expérience N°1 – colorimétrie

Dans le cas du puceron du pois parasité, avant même l'analyse par le logiciel R, les prises photographiques permettent de bien visualiser le changement de coloration. Cela vaut pour les deux espèces de parasitoïdes comme montré ci-dessous (Figure 28 et 29) :

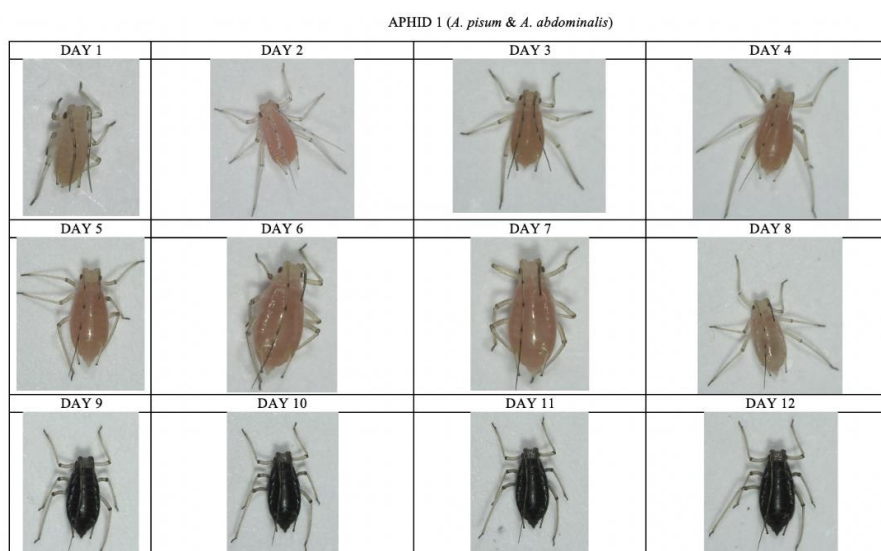


Figure 28 : évolution de la coloration de l'individu 1 (*A. pisum* parasité par *A. abdominalis*) pendant 12 jours.

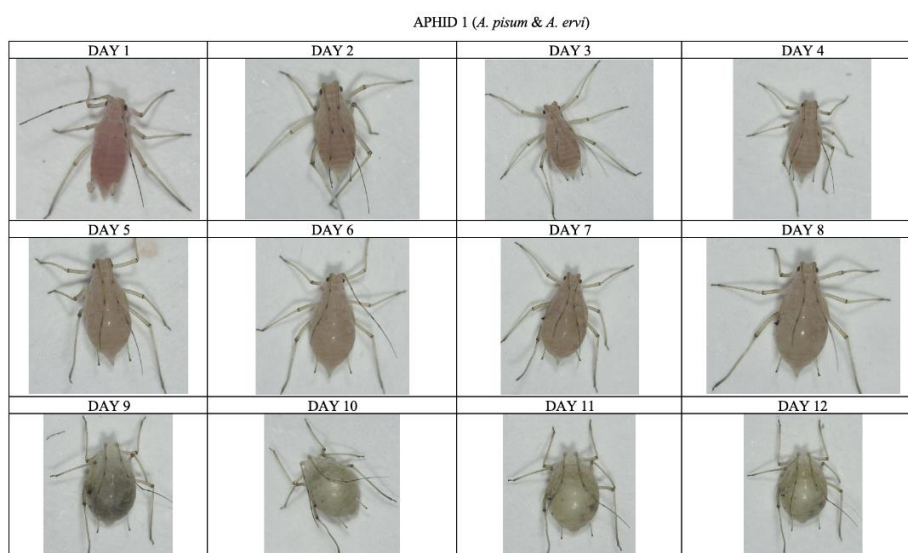


Figure 29 : évolution de la coloration de l'individu 1 (*A. pisum* parasité par *A. ervi*) pendant 12 jours.

Ces photographies ne concernent uniquement qu'un seul individu pour chaque espèce de parasitoïde. Mais, dans les deux situations, le changement de coloration, particulièrement visible dans le cas du parasitisme par *A. abdominalis*, s'est effectué entre le jour 8 et le 9.

En ce qui concerne les pucerons issus du parasitisme d'*A. abdominalis*, pour les 11 suivis, le changement s'est opéré et a été visualisé entre le jour 9 et le 10 (Figure 30 en A). Une autre information que ce graphique a mis en évidence, ce sont les valeurs de luminosité supérieures à partir du jour 9 pour les individus 8 et 11. Après observation des photographies, une explication de ces résultats est que ce sont des pucerons ailés qui entravent la prise de photos. Cela sera donc considéré comme un artéfact. Dans le cas des individus ayant été parasités par la seconde espèce de parasitoïde, *A. ervi*, une légère diminution de la valeur L est observée sur la figure 30B. De plus, cette dernière montre aussi que l'individu 3 ne suit pas la même tendance et a une couleur qui se rapproche du noir en fin d'expérience. Après vérification sur les images obtenues au binoculaire, la couleur du parasitoïde l'a emporté sur celle de la momie (Figure 31).

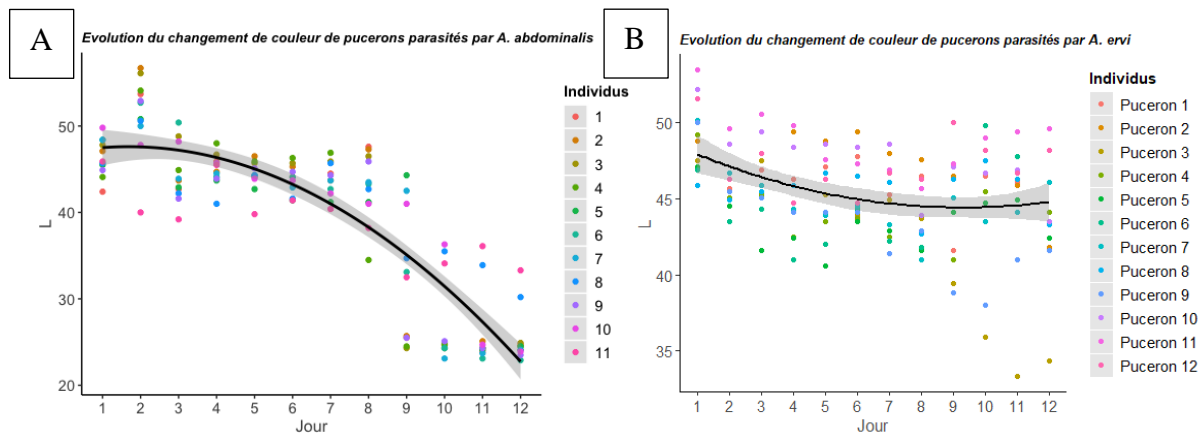


Figure 30 : graphique montrant l'évolution du changement de coloration de pucerons issus du parasitisme d'*Aphelinus abdominalis* (en A) et d'*Aphidius ervi* (en B) sur 12 jours. L est l'abréviation anglaise pour *Lightness*. La courbe en noir illustre les valeurs prédites par le modèle et la zone grise correspond aux intervalles de confiance à 95% tirées du GLM.



Figure 31 : photographie réalisée au binoculaire de l'individu 3 au jour 11 post parasitisme.

Enfin, la réalisation des modèles statistiques associés à ces résultats a permis de conclure qu'il y a effectivement bien un effet quadratique du jour (puisque les points ne suivaient pas une distribution linéaire) pour *Aphelinus abdominalis* (t-value = - 6,06 ;  $p < 0,01$ ) et *Aphidius ervi*

(t-value = 2,14 ;  $p < 0,05$ ). Cela signifie qu'un changement significatif de couleur est observé lorsque la variable jour augmente.

En ce qui concerne le puceron noir de la fève, les résultats n'ont pas été très concluants et ce pour plusieurs raisons. Tout d'abord, le parasitisme entraîne un haut taux de mortalité. En effet, plus de 30 % des organismes sont morts après cette étape. Ensuite, même si le taux de réussite était plus élevé sur plante que sur boîte de pétri, peu d'individus survivaient jusqu'au stade de momification. Les perturbations journalières des pucerons peuvent être un facteur responsable de cette mortalité (décrochage de la feuille, trajet entre l'insectarium et le laboratoire, humidité du plastique, ...). En outre, il est à noter qu'inévitablement tous les pucerons placés dans la boîte de pétri n'ont pas été parasités, mais cela vaut également pour *A. pisum*. Il est donc possible que le peu d'individus survivants n'aient pas été parasités auparavant. Un autre point à relever, c'est qu'au cours de cette expérience, certains individus n'ont pas été retrouvés sur la plante, cela s'explique principalement par leur petite taille et par le fait que cette espèce aime les cachettes difficiles à observer telles que les bourgeons. Tous ces problèmes rencontrés durant cette manipulation expliquent pourquoi chez ce puceron, aucune momie n'a été observée pour les deux espèces de parasitoïdes. De plus, le faible taux de survie d'*A. fabae* parasité en condition expérimentale a contraint de réduire pour les deux expériences suivantes à uniquement travailler avec *A. pisum*.

Grâce aux résultats obtenus précédemment pour les tests colorimétriques, il a été possible de savoir relativement précisément le moment du changement de coloration de la momie que confère *A. abdominalis*. Les dissections relèvent que le stade du parasitoïde était très peu avancé lorsqu'il provoquait le changement de couleur du puceron. En effet, sur les images de la figure 32, aucun membre de l'individu n'est identifiable. A ce stade, il se caractérise uniquement par un amas cellulaire et la formation du cocon ne s'est pas encore déroulée.



Figure 32 : photographies obtenues le 22 novembre 2021 (9 jours post parasitisme) au binoculaire d'*Aphelinus abdominalis*.



## 7.2 Expérience N°2 – test de survie face au froid et aux UVs

Les résultats vont être subdivisés en 3 parties. Tout d'abord, en ce qui concerne les données d'émergence pour les deux espèces, aucune différence significative n'a été relevée en fonction du traitement (avec des valeurs pour *A. abdominalis* ( $\chi^2 = 0,33$  ;  $df = 3$  ;  $p = 0,95$ ) et pour *A. ervi* ( $\chi^2 = 1,58$  ;  $df = 3$  ;  $p = 0,66$ )).

Ensuite, pour les mesures de tibia d'*A. abdominalis*, l'Anova n'a pas mis en évidence une différence selon le traitement ( $\chi^2 = 2,93$  ;  $df = 2$  ;  $p = 0,23$ ) et le test de comparaison de Tukey non plus (Annexe 2). Pour *A. ervi*, les mesures de taille n'ont pas montré de différence significative en fonction du traitement ( $\chi^2 = 6,43$  ;  $df = 3$  ;  $p = 0,09$ ) et la comparaison de moyennes non plus (Annexe 3).

Enfin, l'expérience sur la longévité chez les momies noires n'a pas réussi à démontrer un changement significatif en fonction du traitement (traitement 2 (Z-value = - 1,85 ;  $p = 0,06$ ) et le 3 (Z-value = - 1,57 ;  $p = 0,12$ )). De plus, les courbes de survie de Kaplan Meier pour *Aphelinus abdominalis* ne mettent pas en évidence une différence importante sur la figure 33 A. En ce qui concerne les momies blanches, une différence entre le traitement 1 - 2 (Z-value = - 9,31 ;  $p < 0,01$ ) et 1 - 4 (Z-value = - 8,11 ;  $p < 0,01$ ) a été relevée et peut être visualisée sur le graphique 33 B. En effet, les momies blanches exposées au froid (13°C) ou au froid + UV (13°C) présentent une durée de vie plus longue que les individus du contrôle (20°C) et des UVs (20°C). Cependant, entre le traitement 1 et 3, aucune différence n'a été constatée (Z-value = - 1 ;  $p = 0,32$ ).

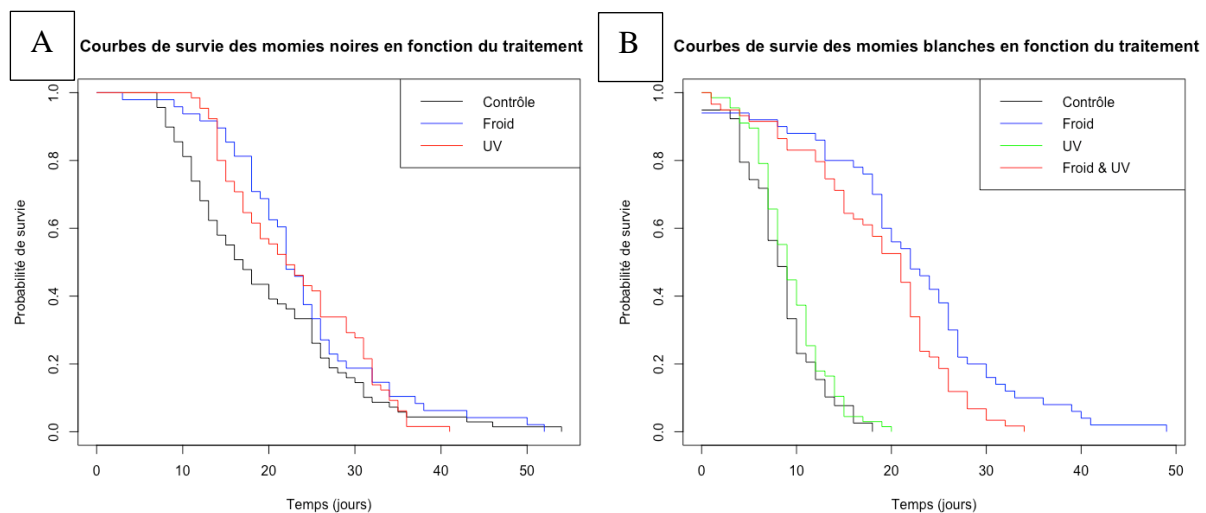


Figure 33 : courbes de survie de Kaplan Meier en fonction du traitement (1 : contrôle (20°C), 2 : Froid (13°C), 3 : UV (20°C) et 4 : Froid + UV (13°C)). En A, le graphique concerne les momies noires issues du parasitisme d'*Aphelinus abdominalis* (les résultats du traitement 4 (Froid + UV) n'ont pas pu être récoltés par manque de temps) et en B, les blanches d'*Aphidius ervi*.

### 7.3 Expérience N°3 – test de résistance aux prédateurs

Les résultats vont être subdivisés en trois parties. Tout d'abord, ceux concernant le suivi des momies sur les plantes selon la couleur pendant 4 jours. L'Anova a relevé un effet significatif du jour sur la quantité de momies. Celui-ci a une direction négative, autrement dit, plus les jours avancent et moins il y a de momies ( $\chi^2 = 92,81$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0,01$ ). En ce qui concerne la variable couleur, le modèle n'a mis en évidence aucun effet ( $\chi^2 = 3,11$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0,07$ ). Cependant, il est à noter qu'un effet significatif de l'interaction entre le jour et la couleur a été constaté ( $\chi^2 = 5,60$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0,01$ ). D'un point de vue biologique, cela signifie que l'effet du jour est différent en fonction de la coloration de la momie. La figure 34 montre qu'il y a une diminution plus importante des individus noirs sur les végétaux en comparaison aux blancs.

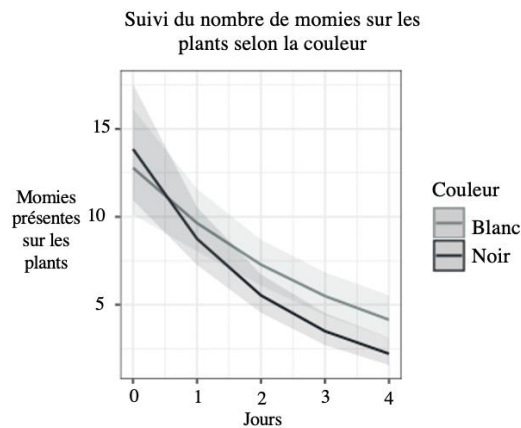


Figure 34 : graphique montrant le suivi de la quantité de momies sur les végétaux selon la couleur. Les observations ont été effectuées durant 4 jours. Les courbes illustrent les valeurs prédites par le modèle et les zones grises correspondent aux intervalles de confiance à 95% tirés du GLM pour chacune des deux couleurs.

En ce qui concerne le déplacement des momies dans le cimetière, l'Anova a relevé qu'il y a d'une part, un effet significatif du jour ( $\chi^2 = 48,68$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0,01$ ) et d'autre part, de la couleur ( $\chi^2 = 7,32$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0,01$ ). En effet, le graphique de la figure 35 A montre qu'il y a une plus grande proportion de momies blanches dans les cimetières au cours du temps par rapport à celles de couleur noire. Cela a été également constaté visuellement lors des relevés quotidiens dans la majorité des réplicas (Figure 35 B). La plupart des momies noires étaient réparties aléatoirement dans le fond de la boîte. Concernant l'état des momies dans le cimetière, les analyses au binoculaire ont montré qu'elles ne présentaient pas de signe de destruction par les fourmis. Le trou d'émergence lors de la sortie du parasitoïde a été d'ailleurs observé sur un grand nombre d'entre elles, peu importe la couleur noire ou blanche (Figure 36). De plus, entre les 24h qui se sont écoulées entre la mise en eppendorf et l'étude des momies, de nombreux parasitoïdes des deux espèces ont émergé.

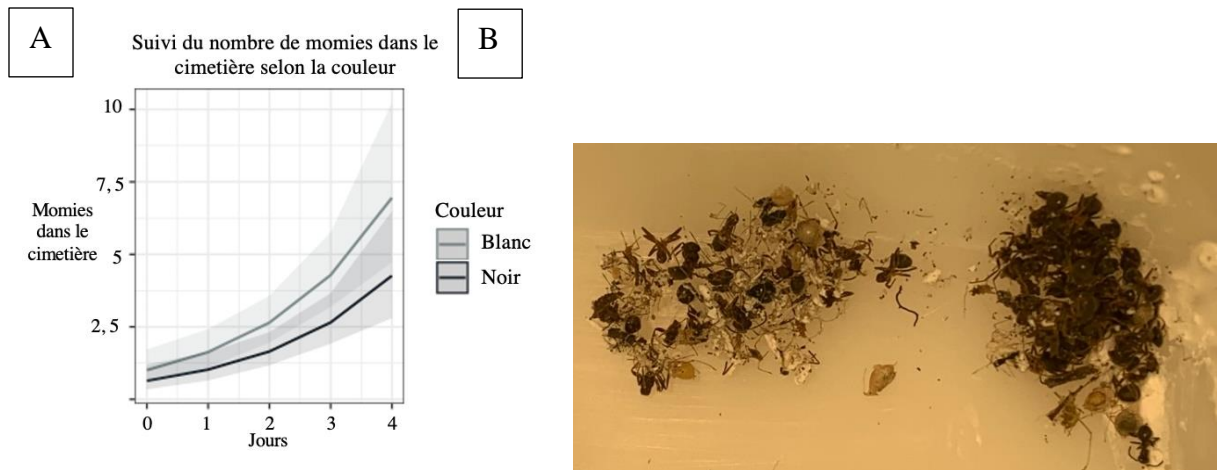


Figure 35 : en A, représentation graphique montrant le suivi (sur 4 jours) du nombre de momies présentes dans le cimetière selon la couleur. Les courbes illustrent les valeurs prédites par le modèle et les zones grises correspondent aux intervalles de confiance à 95% tirées du GLM pour chacune des deux couleurs. En B, photographie prise le 14 novembre 2021, montrant la grande proportion de momies blanches présentes dans les cimetières.



Figure 36 : photographies prises le 16 novembre 2021 montrant l'état des momies récoltées dans le cimetière après 4 jours d'interaction avec les fourmis. Le trou d'émergence est identifiable et est montré par l'intermédiaire de la flèche.

Enfin, les résultats du test de Student montrent une différence significative du nombre de momies trouvées à la fin de l'expérience en fonction de la couleur ( $t\text{-value} = 6,64$  ;  $df = 14$  ;  $p < 0,01$ ). En effet, plus de momies blanches ont été récupérées après les 4 jours d'interaction avec les fourmis. Cela peut être également visualisé sur la figure 37.

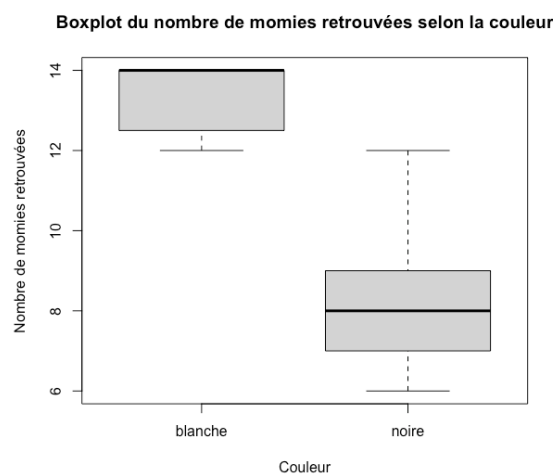


Figure 37 : box-plot montrant le nombre de momies retrouvées en fin d'expérience selon la couleur. La ligne au sein de la boîte à moustache représente la médiane, le bord inférieur du rectangle le premier quartile et le supérieur, le troisième.

## 8. Discussion

### 8.1 Expérience N°1 – colorimétrie

Dans la littérature, aucune étude ne s'est focalisée sur les changements de coloration de la momie du puceron selon l'espèce de parasitoïde. Cependant, quelques hypothèses sur les résultats des tests colorimétriques vont être émises. Tout d'abord, la différence majeure de couleur observée selon l'espèce de parasitoïde (noire pour *Aphelinus abdominalis* et blanche / beige pour *Aphidius ervi*) pourrait être expliquée par le fait que ces deux individus font partie de familles bien distinctes (*Chalcidoidea* et *Ichneumonidae*, respectivement). Un bon nombre d'analyses ont montré que la manipulation par le parasite pouvait engendrer une modification du phénotype chez l'hôte. En effet, ce premier doit maximiser ses chances de survie en mettant en place des stratégies pour contrer les perturbations environnementales (Thomas *et al.*, 2010). Il est probable qu'au cours de l'évolution, ces deux espèces n'ont pas subi les mêmes pressions de sélection et cela expliquerait la divergence de techniques adaptatives.

Ensuite, il est possible que le changement de coloration provienne de la combinaison du parasitoïde et du puceron. Dans la littérature, Tsuchida *et al.*, 2010 ont également émis l'hypothèse que la modification de colorimétrie observée chez le puceron pouvait être induite par la combinaison de la bactérie symbiotique *Rickettsiella* et de *A. pisum*. En effet, comme expliqué précédemment, cette espèce d'Aphididé présente deux morphes : le rouge et le vert. Le premier semblerait être plus sujet à la prédation des coccinelles (étant plus visibles sur les substrats) et le second au parasitisme par les parasitoïdes. Ces chercheurs ont relevé que la cuticule d'un puceron rouge qui était infecté par cette bactérie virait au vert en quelques jours (Figure 38). L'explication biologique de la couleur verte est probablement due à la diminution de l'attraction des prédateurs. Cette bactérie étant souvent trouvée dans des hôtes déjà infectés par *Hamiltonella* ou *Serratia*, ce qui limite fortement le parasitisme par les parasitoïdes, le morphe rouge est donc moins intéressant dans cette situation (Tsuchida *et al.*, 2010). Ils ont émis l'hypothèse que c'était l'union entre *Rickettsiella* et le matériel génétique de l'hôte qui était responsable du changement de coloration puisque certaines bactéries ne peuvent pas conférer cette modification de couleur. De même, les pucerons peuvent réduire ou supprimer les réactions induites par la présence de la bactérie (Tsuchida *et al.*, 2010). Dans le cadre des changements de colorimétrie observés dans ce mémoire, il est probable que l'espèce de parasitoïde intervient dans le changement de coloration mais également celle du puceron. L'hypothèse étant que toutes les espèces ne réagiraient pas de manière identique au parasitisme par *A. abdominalis* et par *A. ervi*. Les résultats sur *Aphis fabae*, puceron noir, auraient été un

élément clé pour effectuer une bonne comparaison dans cette étude (mais cela n'a pas pu être effectuée à cause du haut taux de mortalité post-parasitisme).



Figure 38 (Tsuchida *et al.*, 2010) : photographies montrant le changement de coloration du puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* qui a été infecté par la bactérie symbiotique *Rickettsiella*. Après 11 jours post-infection, la cuticule du puceron rouge est devenue verte.

Enfin, la différence de couleur de la momie peut être également expliquée par les mécanismes de mélanisation de l'hôte. La survie larvaire des parasitoïdes est étroitement liée à la réponse immunitaire du puceron. En effet, les hôtes déclenchent des processus pour tuer le parasitoïde via le processus d'encapsulation. Celui-ci est généralement accompagné par un dépôt de mélanine et par la libération de composés toxiques pour les cellules (Reed *et al.*, 2007). Une hypothèse serait que l'hôte ne réagirait pas de la même manière aux deux espèces de parasitoïdes. Des études ont relevé que les *Ichneumonoidea* possèdent des tératocytes qui sont des cellules impliquées notamment dans la suppression des réponses immunitaires de l'hôte (McLean and Godfray, 2015 ; Pedata *et al.*, 2003). Jusqu'à récemment, aucune analyse n'avait montré la présence de telles structures chez les *Chalcidoidea* (Reed *et al.*, 2007). Cependant, Pedata *et al.* (2003) ont identifié des tératocytes chez *Encarsia berlesei* et *Encarsia citrina* qui font partie des *Chalcidoidea*. Une hypothèse émise est que toutes les espèces de cette famille ne possèdent pas des tératocytes. C'est la raison pour laquelle des réponses immunitaires comme le dépôt mélanique de l'hôte sont observées chez *Aphelinus abdominalis* et pas chez *Aphidius ervi*.

Outre les informations sur le temps nécessaire pour que le parasitoïde induise un changement de coloration de la cuticule du puceron, les dissections de l'abdomen ont été réalisées dans le but d'identifier le stade larvaire d'*Aphelinus abdominalis*. Pour répondre à cela, les analyses de Muratori *et al.* (2004) sur *Aphidius rhopalosiphi* vont être décrites brièvement. Son développement larvaire a été subdivisé en 3 stades bien disjoints. Les principales différences morphologiques sont résumées dans le tableau 1. Tout d'abord, le premier stade fait appel à une morphologie permettant au mieux de faire face au super-parasitisme. En effet, plusieurs larves peuvent avoir été pondues au sein d'un même hôte. Cependant, seule l'une d'entre-elles va pouvoir survivre. A contrario, au dernier stade, la larve met en place des structures

indispensables à acquérir pour avoir son indépendance par rapport à son hôte notamment pour pouvoir respirer seule. Ensuite, cette étude a identifié deux mues (une entre le stade 1 et le 2 ; et la seconde entre le 2 et le 3). Mais, aucun déchet cuticulaire n'a été détecté à l'intérieur de l'hôte puisque la cuticule était particulièrement fine et que le processus de dégradation était relativement rapide. Enfin, l'une des différences majeures entre les stades qui a été constatée est au niveau de leur tégument (Figure 39). Effectivement, au stade 1, de nombreux spicules (10-15  $\mu\text{m}$  de longueur) ont été observés sur la partie abdominale du corps de l'individu. Par contre, au second stade, des zones de « spicules agrégées » (dont la taille était inférieure à 3  $\mu\text{m}$ ) ont été relevées et au dernier stade, les segments de l'abdomen comportaient des bourgeons lisses au niveau ventral et latéral ainsi que des replis longitudinaux situés sur la partie dorsale de l'organisme (Muratori *et al.*, 2004).

Muratori *et al.* ont relevé que ces constatations sont globalement généralisables aux espèces faisant partie du genre *Aphidius*. Etant donné que les dissections de ce travail se sont portées sur des *Aphelinus*, l'hypothèse est que si ces différences sont équivalentes chez ce genre alors, le changement de couleur de la momie s'est effectué lorsque le parasitoïde se trouvait au stade 2. En effet, une queue, de longs spicules n'ont pas été observés. Ces analyses conduisent à la troisième hypothèse, les parasitoïdes utiliseraient la machinerie de l'hôte afin de modifier la couleur de la momie. C'est la raison pour laquelle il est encore possible de voir le contenu du puceron au sein de la momie. Cela a été également suggéré dans l'étude avec *Rickettsiella*, cette bactérie symbiotique utiliserait la machinerie métabolique de l'hôte pour élever la synthèse de pigments conférant la couleur verte et ne produirait pas elle-même des pigments pour la cuticule du puceron (Tsuchida *et al.*, 2010).

Tableau 1 (Muratori *et al.*, 2004) : principales différences morphologiques relevées chez *Aphidius rhopalosiphi* selon le stade larvaire.

	First instar	Second instar		Third instar
		Early	Late	
Mandibles	Sickle shaped	Absent	Absent	Hook shaped
Cauda	Present and mobile	Reduced	Reduced	Absent
Tracheae	Absent	Absent	Present but not completely connected	Connected to spiracles
Tegument sculpturing	Row of spines	Areas of spicules	Areas of spicules	Globular sculpturing

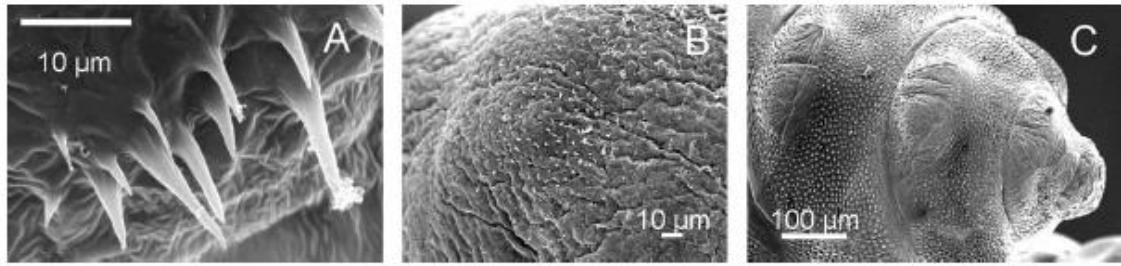


Figure 39 (Muratori *et al.*, 2004) : différence de téguments chez *Aphidius rhopalosiphi* selon le stade larvaire (A : stade 1, B : stade 2 et C : stade 3).

## 8.2 Expérience N°2 – test de survie face au froid et aux UVs

Les résultats n'ont montré ni de différence d'émergence, de taille de tibia, de longévité chez *Aphelinus abdominalis* selon le traitement. Ces expériences n'ont donc pas pu confirmer qu'il y a une meilleure survie de ce parasitoïde aux ultraviolets grâce à la coloration noire de la cuticule du puceron comme dans l'étude de Gaudreau *et al.* (2021). En effet, ces chercheurs ont comparé la résistance aux UVs des nymphes du parasitoïde des punaises *Podisus maculiventris* selon la couleur des œufs. Les analyses ont montré que lorsque ces derniers sont exposés à des UVs, cela affecte de manière significative la survie des nymphes. Cependant, la pigmentation a également un effet significatif puisqu'elle permet de réduire les effets négatifs de ces rayons (Figure 40). Les résultats de Gaudreau *et al.* peuvent être liés à ceux obtenus par Abram *et al.* (2015) car ces scientifiques ont montré que la couleur foncée des œufs peut non seulement permettre une meilleure résistance aux UVs au stade œuf mais également sur la nymphe (*biological carryover effects*<sup>1</sup>) (Gaudreau *et al.*, 2021). Un troisième exemple qui s'oppose aux résultats de ce mémoire porte sur l'étude des œufs d'amphibiens réalisée par Licht (2003). Cette analyse a mis en évidence que lorsque les œufs sont localisés à des endroits fortement exposés aux UVs, ils sont généralement noirs. A contrario, si ceux-ci se trouvent dans des zones à l'abri de cette exposition, leur couleur est souvent plus claire (Licht, 2003). Cela démontre encore une fois bien l'importance de la mélanine pour réduire les effets des UVs (Licht and Grant, 1997). Les conclusions de ces deux expériences remettent donc en doute les résultats obtenus pour *A. abdominalis*. Il serait intéressant de renouveler cette expérience afin de voir si les problèmes de fonctionnement des incubateurs n'ont pas altéré de manière non négligeable les effets des différents traitements.

---

<sup>1</sup> Les conditions du passé ont des conséquences sur les performances du futur de l'individu (O'Connor *et al.*, 2014).



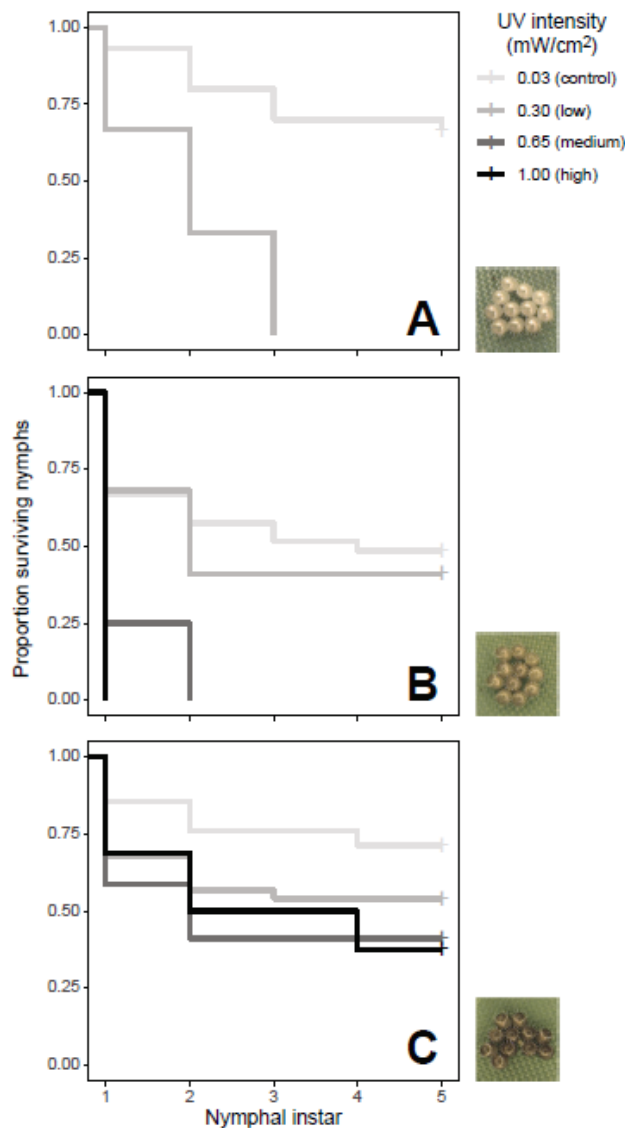


Figure 40 (Gaudreau *et al.*, 2021) : graphiques montrant la proportion de nymphes survivantes *Podisus maculiventris* en fonction de son stade selon la couleur de leur coquille (A : claire, B : intermédiaire et C : foncée). Pour chaque graphe, les lignes représentent l'intensité de rayonnements UVs (0,03 ; 0,3 ; 0,65 ; 1,00 mW/cm<sup>2</sup>) qui a été exposée durant leur stade œuf.

Ensuite, une survie accrue d'*A. abdominalis* face au froid n'a pas été relevée bien qu'elle avait été suggérée. En effet, de nombreuses études ont montré que les individus plus foncés semblent avoir des capacités supérieures à vivre dans des milieux froids. Ceci peut être expliqué par le fait que ces organismes sont capables de se réchauffer plus rapidement puisque la cuticule de l'insecte réfléchit moins le rayonnement solaire. Le fitness des individus est donc influencé par ses aptitudes d'adaptations thermiques. Les formes noires peuvent atteindre leur « optimum thermique » sur une durée plus courte par rapport à celles plus claires dans les habitats froids et donc cela intervient sur ces traits d'histoire de vie (Clusella Trullas *et al.*, 2007). De plus, les conclusions des études de Legrand *et al.* (2004) et Colinet *et al.* (2010) expliquées précédemment avaient également montré que les momies étaient plus foncées lorsque les

parasitoïdes passaient l'hiver en diapause, ce qui a laissé supposer un intérêt de la couleur foncée pour la meilleure survie du parasitoïde en développement. Cela conforte bien l'idée que les résultats de cette étude ne permettent pas de confirmer les hypothèses de départ et ce qui a été obtenu dans la littérature pour d'autres espèces.

Cependant, en ce qui concerne *Aphidius ervi*, une différence significative du taux de longévité a été constatée lorsque les momies étaient exposées au traitement froid ainsi que celui du froid et UVs. La survie de l'état de larve à l'état adulte n'a pas été impactée par ses conditions. Par contre, une hypothèse serait qu'une réduction de leur métabolisme leur a permis une plus longue durée de vie qu'à 20°C. De plus, il est à noter que 13°C n'est pas considéré comme étant « très » froid pour les parasitoïdes. En effet, beaucoup d'analyses sont effectuées avec des températures plus basses pour évaluer l'impact du froid comme 7°C dans l'étude de Ismail *et al.* (2010) et même 0°C dans celle de Ismail *et al.* (2013).

### **8.3 Expérience N°3 – test de résistance aux prédateurs**

Les résultats du test de résistance aux prédateurs selon la couleur de la momie ont relevé plusieurs points qui permettent de suggérer quelques hypothèses. Tout d'abord, une différence significative du nombre de momies déplacées des plantes selon la couleur a été mise en évidence. De plus, la quantité de momies blanches retrouvées en fin d'expérience était significativement plus élevée que celle de noires. Une hypothèse qui expliquerait ces deux résultats est que les momies foncées soient plus visibles sur les feuilles et donc cela susciterait un attrait plus important pour les fourmis par rapport aux blanches. Cela conduirait également à plus de prédation sur ce phénotype. Actuellement, aucune recherche ne s'est portée sur l'influence de la couleur des momies sur le comportement des fourmis. Il n'est donc pas possible de définir si cette hypothèse est la raison biologique qui expliquerait ce phénomène. Cependant, il est important de souligner que d'un point de vue expérimental, la fixation des momies s'est faite avec une goutte d'eau. De faibles mouvements, des courants d'air pouvaient donc générer une chute de la momie du végétal. Les blanches étant plus lourdes, une hypothèse serait qu'elles tombent moins facilement que les noires.

Cette expérience a également relevé que les fourmis déplaçaient les momies des plantes dans une zone regroupant les cadavres de Formicidés. Une meilleure compréhension de la gestion de ces derniers est donc un préalable à la discussion de leur comportement sur les momies. Les fourmis rassemblent les morts dans une zone dite « de décharge coloniale » (Hölldobler *et al.*, 1996). La gestion des cadavres est un élément très important chez les insectes qui vivent en colonie. En effet, la propagation de maladies est très aisée dans des populations aussi grandes, il est donc non négligeable de soustraire les organismes pouvant être porteurs d'une source de pathogènes et de les éloigner du nid (Diez *et al.*, 2012). Lorsqu'une fourmi meurt, elle a généralement une position avec les membres repliés. Cependant, sa position n'est pas le facteur indiquant qu'elle soit morte puisqu'au départ, les ouvrières ne s'intéressent pas à cet individu. Une fois son odeur corporelle dissipée (et donc différente des autres membres de la colonie), les Formicidés la déplacent dans la décharge. Des études ont montré que c'est principalement l'acide oléique et les esters qui interviennent dans le comportement de gestion des cadavres. Lorsqu'une fourmi vivante est induite par une substance contenant cet acide gras, elle sera considérée comme morte pour le reste de la colonie et sera placée avec les autres cadavres (Hölldobler *et al.*, 1996). Une hypothèse est que les momies ont des odeurs inévitablement distinctes des fourmis et c'est la raison pour laquelle elles les emmènent dans la zone rassemblant tous leurs congénères morts. De plus, il est probable que les fourmis déplacent les

momies des colonies de pucerons pour diminuer la pression de parasitisme sur des Aphididés sains (étant donné que la momie est l'enveloppe du puceron dans lequel le parasitoïde se développe). En effet, comme l'étude de Kaneko (2006) l'a montrée la survie des stades immatures des parasitoïdes est plus importante lorsque ceux-ci sont protégés par les fourmis. L'immobilité des momies conduit à une forte pression de sélection qui peut être réduite par le comportement agressif des Formicidés sur les prédateurs intraguïdes des parasitoïdes. Enfin, une plus grande proportion de momies blanches a été retrouvée dans les cimetières par rapport aux noires. La majorité de ces dernières qui ont été récupérées étaient réparties de manière aléatoire au fond de la boîte. Une hypothèse serait que les blanches sont issues d'un déplacement actif des fourmis de la plante au cimetière. Tandis que les noires retrouvées dans la boîte sont tombées de manière involontaire et la plupart sont restées au même endroit que leur point de chute. Cela représente une différence importante de traitement des momies sur les féveroles puisque les foncées ont été mangées et que les claires n'ont pas été consommées mais ont été déplacées dans la décharge coloniale.

## 9. Conclusions et perspectives

En résumé, les hypothèses émises dans ce travail ouvrent la voie à de nombreuses perspectives pour de futures recherches. Il serait intéressant notamment de réaliser des analyses approfondies sur la morphologie d'*Aphelinus abdominalis* afin d'identifier la présence / absence de tératocytes (cellules qui suppriment la réponse immunitaire de l'hôte). Cela pourrait se faire grâce à un microscope électronique comme utilisé pour *Encarsia berlesei* par Pedata *et al.* (2003). Ensuite, les tests de survie n'ont pas montré de résultats décisifs à cause des problèmes de fonctionnement des incubateurs. Afin de confirmer que ces conditions n'ont aucun impact sur le parasitoïde, une répétition de l'expérience est indispensable. De plus, une étude du stade larve à l'état pupe (donc avant la formation de momie) pourrait également être une donnée utile pour tester si la couleur des momies est un trait adaptatif. Enfin, l'analyse de la prédation des momies aux fourmis amène de multiples suggestions d'expérience. Tout d'abord, il serait nécessaire de faire momifier les pucerons directement sur les feuilles pour vérifier que le déplacement et le manque de momies après les 4 jours d'interaction soient issus du comportement des fourmis. Dans cette expérience, la fragilité de la fixation a constitué un biais important. En outre, un changement de couleur du substrat pourrait également être intéressant pour mesurer l'efficacité du camouflage. Ceci pourrait se faire en réalisant une comparaison de l'attitude des fourmis sur un fond noir et un blanc. Une dernière perspective d'étude pourrait être l'utilisation de mannequins (modèles) avec le profil d'hydrocarbures cuticulaires (CHC) de momies blanches et même envisager de parsemer des fourmis vivantes avec ces CHC afin de voir si elles les amènent à leur cimetière. Ces résultats pourraient expliquer les raisons qui poussent les Formicidés à mettre des pucerons momifiés dans leur décharge colonie.

## 10. Bibliographie

Abram, P.K., Guerra-Grenier, E., Després-Einspinner, M.-L., Ito, S., Wakamatsu, K., Boivin, G., and Brodeur, J. (2015). An Insect with Selective Control of Egg Coloration. *Current Biology* 25, 2007–2011.

Aron, S., and Passera, L. (2000). *Les sociétés animales: évolution de la coopération et organisation sociale* (Bruxelles [Paris]: De Boeck université).

Battaglia, D., Poppy, G., Powell, W., Romano, A., Tranfaglia, A., and Pennacchio, F. (2000). Physical and chemical cues influencing the oviposition behaviour of *Aphidius ervi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94, 219–227.

Becques, A., Doury, G., Prévost, G., and Couty, A. (2011). Capacité de discrimination entre hôtes non parasités et parasités chez *Aphelinus abdominalis*, parasitoïde de puceron. ef.

Berthier, S. (2007). *Iridescences: the physical colors of insects* (New York ; London: Springer), pp. 7-9 ; 130-131.

Blackman, R., Eastop, Victor. (2017). Taxonomic issues. In: van Emden, H.F. and Harrington, R. (eds) *Aphids as Crop Pests*, 2nd edn. CABI, Wallingford, 1-36.

Boivin G., Hance T., and Brodeur J. (2012). Aphid parasitoids in biological control. *Canadian Journal of Plant Science*.

Braendle, C., and Weisser, W.W. (2001). Variation in Escape Behavior of Red and Green Clones of the Pea Aphid. *Journal of Insect Behavior* 14, 497–509.

Brodeur, J., Hajek, A. E., Heimpel, G. E., Sloggett, J. J., Mackauer, M., Pell, J. K., ... and Harrington, R. (2017). Predators, parasitoids and pathogens. In: van Emden, H.F. and Harrington, R. (eds) *Aphids as Crop Pests*, 2nd edn. CABI, Wallingford, 225-261.

Brodeur, J., and McNeil, J. N. (1989). Seasonal microhabitat selection by an endoparasitoid through adaptive modification of host behaviour. *Science*, 244, 226–228.

Brodeur, J., and Rosenheim, J.A. (2000). Intraguild interactions in aphid parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97, 93–108.

Caillaud, M.C., and Losey, J.E. (2010). Genetics of color polymorphism in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Science* 10.

Chapman, R.F. (1998). *The insects: structure and function* (Cambridge, UK ; New York, NY: Cambridge University Press).

Chinery, M. (1987). *Les insectes d'Europe en couleurs* (Paris: Bordas), pp. 151 ; 294-297.

Chinery, M. (2012). *Insectes de France et d'Europe occidentale* (Paris: Flammarion), pp. 234.

Chittka, L. (2001). Camouflage of predatory crab spiders on flowers and the colour perception of bees (Aranida: Thomisidae/Hymenoptera: Apidae). *Entomologia generalis*, 25(3), 181-187.

Clusella Trullas, S., van Wyk, J.H., and Spotila, J.R. (2007). Thermal melanism in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* 32, 235–245.

Colinet, H., Muratori, F., and Hance, T. (2010). Cold-induced expression of diapause in *Praon volucre*: fitness cost and morpho-physiological characterization. *Physiological Entomology* 35, 301–307.

Corfdir, V. (2020). Guide pratique des insectes et autres invertébrés des champs, pp. 221 ; 224.

Côte, J., Boniface, A., Blanchet, S., Hendry, A.P., Gasparini, J., and Jacquin, L. (2018). Melanin-based coloration and host–parasite interactions under global change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 285, 20180285.

Diez, L., Deneubourg, J.-L., and Detrain, C. (2012). Social prophylaxis through distant corpse removal in ants. *Naturwissenschaften* 99, 833–842.

Duarte, R.C., Flores, A.A.V., and Stevens, M. (2017). Camouflage through colour change: mechanisms, adaptive value and ecological significance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372, 20160342.

Dubovskiy, I.M., Whitten, M.M.A., Kryukov, V.Y., Yaroslavtseva, O.N., Grizanova, E.V., Greig, C., Mukherjee, K., Vilcinskas, A., Mitkovets, P.V., Glupov, V.V., et al. (2013). More than a colour change: insect melanism, disease resistance and fecundity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280, 20130584.

Duc, G. (1997). Faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Research* 53, 99–109.

El-Heneidy, A., and Adly, D. (2009). Discrimination among Aphid Parasitoids Through Characteristics of their Mummies. *Egyptian Journal of Pest Control* 19(1), 37–40.

Ephytia. (2014). Biocontrol. Available : <http://ephytia.inra.fr/fr/P/117/Biocontrol> , consulté le 27 avril 2021.



Fedorka, K.M., Lee, V., and Winterhalter, W.E. (2013). Thermal environment shapes cuticle melanism and melanin-based immunity in the ground cricket *Allonemobius socius*. *Evol Ecol* 27, 521–531.

Fischer, M., Volkl, W., and Hoffmann, K. (2005). Honeydew production and honeydew sugar composition of polyphagous black bean aphid, *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) on various host plants and implications for ant-attendance. *European Journal of Entomology* 102, 155–160.

Gaudreau, M., Guerra-Grenier, E., Abram, P.K., and Brodeur, J. (2021). Photoprotective egg pigmentation reduces negative carryover effects of ultraviolet radiation on stink bug nymph survival. *Journal of Insect Physiology* 133, 104273.

Ghahari, H., Fischer, M., Çetin Erdoğan, Ö., Tabari, M., Ostovan, H., and Beyarslan, A. (2009). A contribution to Braconidae (Hymenoptera) from rice fields and surrounding grasslands of Northern Iran. *Munis Entomology & Zoology* 4.

Giraud, M., Albouy, V., Lasserre, F., and Berger, M. (2019). Les insectes en bord de chemin : [petits mais grandioses, les insectes méritent notre attention] (Paris : Delachaux et Niestlé), pp. 101.

Guerra-Grenier, E. (2019). Evolutionary ecology of insect egg coloration: a review. *Evol Ecol* 33, 1–19.

Hajimu, T., and Hashimoto, Y. (1985). Association of the Root Aphid Parasitoids *Aclitus sappaphis* and *Paralipsis eikoeae* (Hymenoptera, Aphidiidae) with the Aphid-attending Ants *Pheidole fervida* and *Lasius niger* (Hymenoptera, Formicidae)<sup>1</sup>. *Entomological Science (Koncyu)* 53, 150–160.

Halfhill, J.E., Featherston, P.E., and Dickie, A.G. (1972). History of the *Praon* and *Aphidius* Parasites 1 of the Pea Aphid 2 in the Pacific Northwest 3 , 4. *Environmental Entomology* 1, 402–405.

Hance, T., Kohandani-Trafresh, F. and Munaut F. (2017). Biological control. In: van Emden, H.F. and Harrington, R. (eds) *Aphids as Crop Pests*, 2nd edn. CABI, Wallingford, 448-493.

Hayashi, M., Nakamuta, K., and Nomura, M. (2015). Ants Learn Aphid Species as Mutualistic Partners: Is the Learning Behavior Species-Specific? *J Chem Ecol* 41, 1148–1154.

Heath, J.J., Cipollini, D.F., and Stireman III, J.O. (2013). The role of carotenoids and their derivatives in mediating interactions between insects and their environment. *Arthropod-Plant Interactions* 7, 1–20.

Henry, L.M., Gillespie, D.R., and Roitberg, B.D. (2005). Does mother really know best? Oviposition preference reduces reproductive performance in the generalist parasitoid *Aphidius ervi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 116, 167–174.

Hölldobler, B., Wilson, E.O., and Olivier, D. (1996). *Voyage chez les fourmis : une exploration scientifique* (Paris: Éd. du Seuil), pp. 120-123 ; 161-173.

Ismail, M., Van Baaren, J., Hance, T., Pierre, J.-S., and Vernon, P. (2013). Stress intensity and fitness in the parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae): temperature below the development threshold combined with a fluctuating thermal regime is a must. *Ecological Entomology* 38, 355–363.

Ismail, M., Vernon, P., Hance, T., and van Baaren, J. (2010). Physiological costs of cold exposure on the parasitoid *Aphidius ervi*, without selection pressure and under constant or fluctuating temperatures. *BioControl* 55, 729–740.

Itioka, T., and Inoue, T. (1999). The alternation of mutualistic ant species affects the population growth of their trophobiont mealybug. *Ecography* 22, 169–177.

Johnson, J. W., Eikenbary, R. D., and Holbert, D. (1979). Parasites of the greenbug and other graminaceous aphids: identity based on larval meconia and features of the empty aphid mummy. *Annals of the Entomological Society of America*, 72(6), 759-766.

Kaneko, S. (2003a). Impacts of two ants, *Lasius niger* and *Pristomyrmex pungens* (Hymenoptera: Formicidae), attending the brown citrus aphid, *Toxoptera citricidus* (Homoptera: Aphididae), on the parasitism of the aphid by the primary parasitoid, *Lysiphlebus japonicus* (Hymenoptera: Aphidiidae), and its larval survival. *Applied Entomology and Zoology* 38, 347–357.

Kaneko, S. (2003b). Different impacts of two species of aphid-attending ants with different aggressiveness on the number of emerging adults of the aphid's primary parasitoid and hyperparasitoids. *Ecol Res* 18, 199–212.

Kaneko, S. (2006). Predator and parasitoid attacking ant-attended aphids: effects of predator presence and attending ant species on emerging parasitoid numbers. *Ecol Res* 22, 451.

Katayama, N., and Suzuki, N. (2003). Bodyguard effects for aphids of *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae) as related to the activity of two ant species, *Tetramorium caespitum* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) and *Lasius niger* L. (Hymenoptera: Formicidae). *Applied Entomology and Zoology* 38, 427–433.

Krespi, L., Dedryver, C.-A., Creach, V., Rabasse, J.-M., Le Ralec, A., and Nenon, J.-P. (1997). Variability in the Development of Cereal Aphid Parasitoids and Hyperparasitoids in Oceanic Regions as a Response to Climate and Abundance of Hosts. *Environmental Entomology* 26, 545–551.

Kronauer, D.J.C., and Pierce, N.E. (2011). Myrmecophiles. *Current Biology* 21, R208–R209.

Lang, C., and Menzel, F. (2011). *Lasius niger* ants discriminate aphids based on their cuticular hydrocarbons. *Animal Behaviour* 82, 1245–1254.

Lebas, C., Galkowski, C., Blatrix, R., Wegnez, P. (2016). Guide Delachaux : Fourmis d'Europe occidentale (Paris : Delachaux et Niestlé), pp. 29-30 ; 220-221.

Legrand, M. A., Vernon, P., Krespi, L., and Hance, T. (2004). Morphological and physiological differences between mummy colour morphs of *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Braconidae): An adaptation to overwintering? *Belgian Journal of Zoology*, 134(2 PART 1), 9–13.

Libbrecht, R., Gwynn, D.M., and Fellowes, M.D.E. (2007). *Aphidius ervi* Preferentially Attacks the Green Morph of the Pea Aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *J Insect Behav* 20, 25–32.

Licht, L.E. (2003). Shedding Light on Ultraviolet Radiation and Amphibian Embryos. *BioScience* 53, 551–561.

Licht, L.E., and Grant, K.P. (1997). The Effects of Ultraviolet Radiation on the Biology of Amphibians1. *American Zoologist* 37, 137–145.

Limburg, D.D., Mauk, P.A., and Godfrey, L.D. (1997). Characteristics of Beet Yellows *Closterovirus* Transmission to Sugar Beets by *Aphis fabae*. *Phytopathology*® 87, 766–771.

Majerus, M.E.N. (2009). Industrial Melanism in the Peppered Moth, *Biston betularia*: An Excellent Teaching Example of Darwinian Evolution in Action. *Evo Edu Outreach* 2, 63–74.

McClure, M., Whistlecraft, J., and McNeil, J.N. (2007). Courtship Behavior in Relation to the Female Sex Pheromone in the Parasitoid, *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). *J Chem Ecol* 33, 1946–1959.

McLean, A.H.C., and Godfray, H.C.J. (2015). Evidence for specificity in symbiont-conferred protection against parasitoids. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282, 20150977.

Meyhöfer, R., and Klug, T. (2002). Intraguild predation on the aphid parasitoid *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiidae): mortality risks and behavioral decisions made under the threats of predation. *Biological Control* 25, 239–248.

Muratori, F., Lannic, J.L., Nénon, J.-P., and Hance, T. (2004). Larval morphology and development of *Aphidius rhopalosiphii* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae)1. *The Canadian Entomologist* 136, 169–180.

O'Connor, C.M., Norris, D.R., Crossin, G.T., and Cooke, S.J. (2014). Biological carryover effects: linking common concepts and mechanisms in ecology and evolution. *Ecosphere* 5, art28.

Pedata, P.A., Garonna, A.P., Zabatta, A., Zeppa, P., Romani, R., and Isidoro, N. (2003). Development and morphology of teratocytes in *Encarsia berlesei* and *Encarsia citrina*: first record for Chalcidoidea. *Journal of Insect Physiology* 49, 1063–1071.

Polgár, L.A., Darvas, B., and Völkl, W. (1995). Induction of dormancy in aphid parasitoids: implications for enhancing their field effectiveness. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 52, 19–23.

Quicke, D., and van Achterberg, C. (1990). Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Zool. Verh. Leiden* 258.

Reece, J.B., and Campbell, N.A. (2012). *Campbell biologie* (Paris: Pearson), pp. 544.

Reed, D.A., Luhring, K.A., Stafford, C.A., Hansen, A.K., Millar, J.G., Hanks, L.M., and Paine, T.D. (2007). Host defensive response against an egg parasitoid involves cellular encapsulation and melanization. *Biological Control* 41, 214–222.

Renoult, J., and Valeur, B. (2016). *The Colors of Life*. ChemViews.

Sequeira, R., and Mackauer, M. (1992a). Nutritional Ecology of an Insect Host-Parasitoid Association: The Pea Aphid-*Aphidius Ervi* System. *Ecology* 73, 183–189.

Sequeira, R., and Mackauer, M. (1992b). Covariance of adult size and development time in the parasitoid wasp *Aphidius ervi* in relation to the size of its host, *Acyrtosiphon pisum*. *Evol Ecol* 6, 34–44.

Shamim, G., Ranjan, S.K., Pandey, D.M., and Ramani, R. (2014). Biochemistry and biosynthesis of insect pigments. *EJE III*, 149–164.

Snyder, W.E., and Ives, A.R. (2003). Interactions Between Specialist and Generalist Natural Enemies: Parasitoids, Predators, and Pea Aphid Biocontrol. *Ecology* 84, 91–107.

Solano, F. (2014). Melanins: Skin Pigments and Much More—Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. *New Journal of Science* 2014, e498276.

Stevens, M., and Merilaita, S. (2011). *Animal Camouflage: Mechanisms and Function* (Cambridge University Press), pp. 1-17.

Suty, L. (2010). *La lutte biologique : vers de nouveaux équilibres écologiques* (Versailles : Quae), pp 40-50, 113-135.

Thomas, F., Poulin, R., and Brodeur, J. (2010). Host manipulation by parasites : a multidimensional phenomenon. *Oikos* 119, 1217–1223.

Tokunaga, E., and Suzuki, N. (2008). Colony growth and dispersal in the ant-tended aphid, *Aphis craccivora* Koch, and the non-ant-tended aphid, *Acyrtosiphon pisum* Harris, under the absence of predators and ants. *Popul Ecol* 50, 45–52.

Tougeron, K., van Baaren, J., Town, J., Nordin, D., Dumonceaux, T., and Wist, T. (2021). Body-color plasticity of the English grain aphid in response to light in both laboratory and field conditions. *Evol Ecol* 35, 147–162

Tsuchida, T., Koga, R., Horikawa, M., Tsunoda, T., Maoka, T., Matsumoto, S., Simon, J.-C., and Fukatsu, T. (2010). Symbiotic Bacterium Modifies Aphid Body Color. *Science* 330, 1102–1104.

Velasco-Hernández, M.C., Desneux, N., Ramírez-Martínez, M.M., Cicero, L., and Ramírez-Romero, R. (2017). Host species suitability and instar preference of *Aphidius ervi* and *Aphelinus abdominalis*.

Viridaxis, natural aphid control. <https://www.viridaxis.com/fr/documents>, consulté le 27/04/2021.

Völkl, W. (1997). Interactions Between Ants and Aphid Parasitoids: Patterns and Consequences for Resource Utilization. In *Vertical Food Web Interactions: Evolutionary Patterns and Driving Forces*, K. Dettner, G. Bauer, and W. Völkl, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer), pp. 225–240.

Wharton, R.A. (1993). Bionomics of the Braconidae. *Annual Review of Entomology* 38, 121–143.

Yang, S., Duan, J.J., Watt, T., Abell, K.J., and Van Driesche, R.G. (2012). Responses of an Idiobiont Ectoparasitoid, *Spathius galinae* (Hymenoptera: Braconidae), to Host Larvae Parasitized by the Koinobiont Endoparasitoid *Tetrastichus planipennisi* (Hymenoptera: Eulophidae): Implications for Biological Control of Emerald Ash Borer (Coleoptera: Buprestidae). *Environmental Entomology* 41, 925–932.



## 11. Annexes

Annexe 1 : réglages du binoculaire avant chaque début de relevé.

<i>Exposure S</i>	0
<i>Exposure 100mS</i>	0
<i>Exposure mS</i>	5
<i>Gain</i>	0
<i>Gamma</i>	40
<i>Contrast</i>	8
<i>Saturation</i>	7
<i>Red</i>	20
<i>Blue</i>	28
<i>Color Temp</i>	5250 K
<i>Brightness</i>	15
<i>Sharpness</i>	5
<i>Denoise</i>	4

Annexe 2 : tableau du résultat du test de comparaison deux à deux (test de Tukey) pour *A. abdominalis*.

Traitement 1-2	t-value = 1,51 ; p = 0,29
Traitement 1-3	t-value = 0 ; p = 1
Traitement 2-3	t-value = - 1,50 ; p = 0,29

Annexe 3 : tableau du résultat du test de comparaison deux à deux (test de Tukey) pour *A. ervi*.

Traitement 1-2	t-value = 0,06 ; p = 1
Traitement 1-3	t-value = 0,44 ; p = 0,97
Traitement 1-4	t-value = - 1,62 ; p = 0,37
Traitement 2-3	t-value = 0,41 ; p = 0,98
Traitement 2-4	t-value = - 1,80 ; p = 0,27
Traitement 3-4	t-value = - 2,39 ; p = 0,08