

Université Pierre et Marie Curie, Paris – École Doctorale Diversité du Vivant



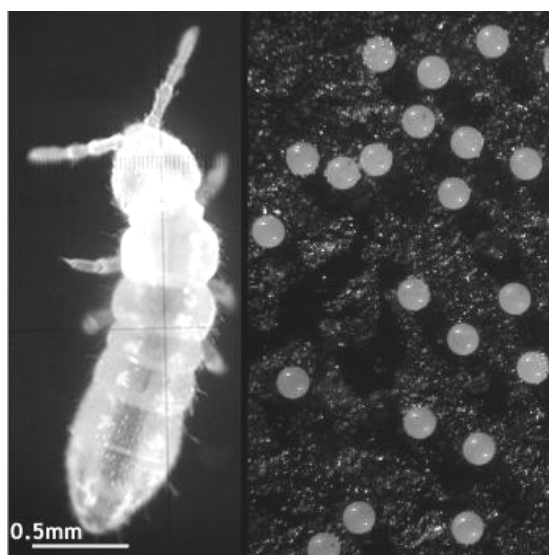
Thèse de doctorat de l'Université Paris 6

Spécialité **écologie**

Présentée par **Frédéric Thomas Tully**

Pour obtenir le grade de docteur de l'Université Paris 6

Facteurs génétiques, maternels et
environnementaux de l'expression des traits
d'histoire de vie chez le collembole *Folsomia candida*



Thèse soutenue le 20 septembre 2004
devant le jury composé de :

Dr. Jacintha Ellers, Université Libre d'Amsterdam, Pays-Bas

Pr. Pierre-Henri Gouyon, Université de Paris-Sud, France

Dr. Ophélie Ronce, Université de Montpellier II, France

Pr. Daniel Promislow, Université de Géorgie, États-Unis d'Amérique du Nord

Pr. Robert Barbault, Université Pierre et Marie Curie, France

Pr. Régis Ferrière, Université Pierre et Marie Curie, France

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Directeur de Thèse

Remerciements

Good judgment comes from experience; experience comes from bad judgment. Fred Brooks

The intensity of the conviction that a hypothesis is true has no bearing on whether it is true or not (Medawar 1979)

Je dédie ce travail à la mémoire de David Sadler Hall ainsi qu'à mes proches, Lucia, Taor, Ouda, Balthazar, Roufayda, Hayet, Christine & Gino, Françoise & John. Merci pour tout.

Je suis profondément reconnaissant à Régis Ferrière pour avoir accepté d'encadrer mon travail et s'être engagé avec moi sur des chemins scientifiques en partie nouveaux. Ton formidable enthousiasme a été une source jamais tarie de motivation.

Je remercie les membres du jury pour l'attention qu'ils ont porté à ce travail. Je remercie Jean Clobert pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire d'écologie ainsi que tous les membres du laboratoire d'écologie et en particulier à tout son personnel administratif et technique.

○ Collaborateurs

Ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide de plusieurs personnes envers qui je suis très reconnaissant. Merci à Murielle Richard, qui a effectué la mise au point des techniques moléculaires. Merci pour l'intérêt, l'enthousiasme, et le professionnalisme que tu as et que tu continues à investir dans ce travail et pour ton soutien et tes encouragements. Un grand coup de chapeau à Alexis Drzemczewski qui m'a apporté une aide cruciale pour la mise en place et la réalisation des expériences les plus lourdes. Merci Michelle Huet pour ton aide précieuse.

Le travail présenté ici a été effectué dans le cadre du programme européen Modlife. Je suis très reconnaissant à la Communauté Européenne et à Ulf Dieckmann et ses collaborateurs pour avoir permis la mise en place et le fonctionnement de ce programme. J'ai pu grâce à ce dernier travailler en association avec Nathan Pike et en étroite collaboration avec le laboratoire de biologie théorique de l'Université de Leyde aux Pays-Bas. Je remercie Hans Metz, Patsy Haccou, Tom van Dooren, Klaus Rueffler et Michel Durinx pour m'avoir chaleureusement accueilli à Leyde et m'avoir fait découvrir et apprécier les Pays-Bas. Un grand merci à Tom van Dooren qui a suivi et accompagné ce travail depuis ses débuts, qui m'a initié aux joies des statistiques, aux plaisirs d'un test bien mené, à ceux des bières belges et hollandaises et qui m'a fait tomber dans la marmite de R à temps.

Je remercie enfin Phill Cassey, Jean Clobert, Andrew Gonzalez, Robin McCleery, Christopher Perrin avec qui j'ai eu le plaisir de travailler.

○ La communauté des collemboles

Merci à mes fournisseurs officiels de clones, Arlette Provansal pour le super clone AP, Guy Vannier pour le mythique BR, Barbara Viginier pour BV, Heidi Sijssen & Christina Weidick Kærsgaard pour les clones DK, US et l'incontournable et mystérieux GB, Cyrille D'Haese & Judith Najt pour GM, Ger Ernsting pour le sensible HA, Louis Deharveng & Anne Bedos pour super héros TO et Michael L. Draney pour WI, dit "l'américain".

Merci encore à Cyrille, Louis & Anne pour votre soutien, votre aide et votre expertise. Un clin d'œil à tous les collembologistes rencontrés au détour d'un mel ou d'un colloque: Renate Snider, Steve Hopkin, Dan Johnson, Gerard Driessen...

○ Collègues & amis

Apprendre à contrôler et utiliser correctement son ordinateur, prendre le goût d'une boucle bien faite n'aurait pas été possible sans les conseils éclairés du brillant et généreux Henri Binztok. Merci à mon collègue et ami Jean-François Le Galliard pour tous nos riches échanges scientifiques et amicaux.

Spéciale dédicace à Sébastien, Patrice, Séverine, Béatriz, Diégo, Pascal, Cécile, Sergio, Anna, Anna Maria, ... et à tous mes amis de l'association Cité Prost qui m'ont accompagné au cours de ces années. Spéciale dédicace à mes collègues de bureau : Carmen, Moïse, Hélène, Mathias, Solenne, Delphine, Léa, à mes amis du RU Nicolas & Guillaume et à tous mes collègues de l'ENS et de Jussieu (la liste est trop longue mais vous y êtes tous). Spécial dédicace à Amaury, Diane, Fabienne, Guillaume & Guillaume, Isabelle, Samuel & le reste de **CJCens** pour le plaisir que j'ai eu à battre le pavé parisien en votre compagnie.

Un grand merci et bravo enfin à toutes les équipes de **France Culture** dont les émissions m'ont accompagnées quotidiennement au cours de ces années et m'ont permis d'éviter une apoptose généralisée au cours des longues périodes d'expériences parfois quelque peu fastidieuses et répétitives. Vous êtes essentiels !

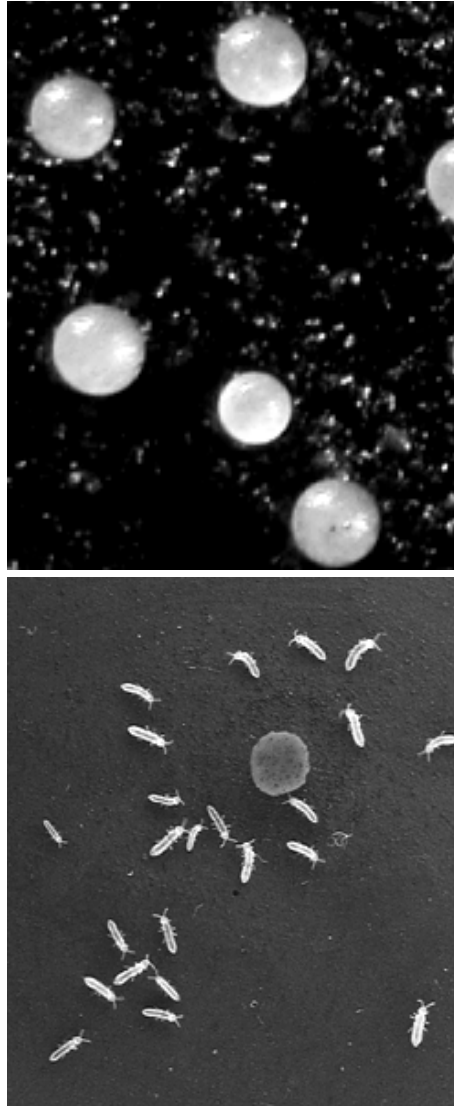
Table des matières

REMERCIEMENTS	2
TABLE DES MATIERES	3
CHAPITRE 1 INTRODUCTION GENERALE	6
A L'EVOLUTION DES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE	7
A I Objets d'étude	8
A II Méthodes d'études	12
B NOS AXES DE RECHERCHE	14
B I Méthodes d'étude	15
B II Croissance et maturation	16
B III Allocation et partage	17
B IV Survie et reproduction	17
C OUTILS STATISTIQUES	18
C I Visualisation des données	18
C II Modéliser des temps	18
C III L'utilisation des modèles mixtes	20
C IV Modèles en équations structurées	24
D PLAN	25
CHAPITRE 2 FOLSOMIA CANDIDA, UN ORGANISME MODELE EN ECOLOGIE EVOLUTIVE 26	
A LES COLLEMBOLLES	27
A I Principales synapomorphies	27
A II Éléments de physiologie et d'éthologie	27
B CYCLE DE VIE ET BIOLOGIE DE <i>FOLSOMIA CANDIDA</i>	28
B I Présentation	28
B II Reproduction	29
B III Nourriture	32
C METHODES D'ELEVAGE	33
C I Boîtes d'élevage	33
C II Nourriture	35
C III Problèmes d'élevage	37
D MESURES ET BIOMETRIE	38
D I Mesures de taille et de croissance	38
D II Caractéristiques des pontes	40
D III Caractérisation des clones	41
D IV Caractérisation des populations	43
E CONSTITUTION D'UNE BANQUE DE CLONES	44
E I Présentation des clones collectés	45
E II Marqueurs moléculaires	47
E III Relations phylétiques	47
CHAPITRE 3 DEVELOPPEMENT, CROISSANCE ET MATURATION	49
A INTRODUCTION	50
A I L'évolution des stratégies de croissance et de maturation	50
A II Objectifs de l'étude	54
B MATERIEL ET METHODES	55
B I Protocole expérimental	55

<i>B II Analyses statistiques</i>	57
C RESULTATS	60
<i>C I Développement des œufs</i>	60
<i>C II Trajectoires de croissance</i>	61
<i>C III Maturation</i>	69
<i>C IV Maturation et trajectoires de croissance</i>	75
<i>C V La maturation étudiée comme un processus stochastique</i>	78
D DISCUSSION	78
<i>D I Développement embryonnaire</i>	78
<i>D II Croissance</i>	79
<i>D III Maturation</i>	81
<i>D IV Conclusion</i>	83
CHAPITRE 4 AJUSTEMENT ET PARTAGE DE L'INVESTISSEMENT	
REPRODUCTEUR	85
A INTRODUCTION	86
<i>A I Patrons de variation de l'allocation dans la reproduction</i>	86
<i>A II Taille optimale des œufs</i>	87
<i>A III Patrons de variation de la taille des œufs</i>	89
<i>A IV Investissement reproducteur et partage de la ressource</i>	90
<i>A V Motivations de l'expérience</i>	91
B MATERIEL ET METHODES	91
<i>B I Taille et qualité des jeunes</i>	91
<i>B II Patrons d'investissement dans la reproduction</i>	92
C RESULTATS	94
<i>C I Taille des œufs et qualité des jeunes</i>	94
<i>C II Nombre et taille des œufs</i>	96
<i>C III Investissement et effort reproducteur</i>	98
D DISCUSSION	103
CHAPITRE 5 REPRODUCTION, SURVIE, VIEILLISSEMENT	109
A INTRODUCTION	110
<i>A I Théories sur l'évolution du vieillissement</i>	110
<i>A II Test des théories évolutives</i>	111
<i>A III Vieillesse et effort reproducteur</i>	112
<i>A IV Les facteurs influençant le vieillissement</i>	113
<i>A V Changement des taux de mortalité avec l'âge</i>	115
<i>A VI Changement de la reproduction avec l'âge</i>	115
<i>A VII Problématiques abordées</i>	116
B MATERIEL ET METHODE	117
<i>B I Protocole expérimental</i>	117
<i>B II Mesure de la réponse fonctionnelle sur trois clones</i>	117
<i>B III Analyses statistiques</i>	118
C RESULTATS	121
<i>C I Manifestations physiologiques et comportementales du vieillissement</i>	121
<i>C II Patrons de reproduction</i>	122
<i>C III Patrons de survie</i>	137
<i>C IV Facteurs de risques extrinsèque : les paramètres de la réponse fonctionnelle varient-ils entre clones?</i>	145
<i>C V Compromis entre survie et reproduction</i>	145

D	DISCUSSION	150
CHAPITRE 6 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES		158
A	L'HERITABILITE DES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE	159
B	DES TRAITS QUI REPONDENT A L'ENVIRONNEMENT	160
C	LA CONSTELLATION DES CORRELATIONS	161
D	CROISSANCE ET MATURATION, DES TRAITS DYNAMIQUES ET INTEGRES	164
E	CONTEXTE MACRO-EVOLUTIF	165
F	PERSPECTIVES	167
CHAPITRE 7 BIBLIOGRAPHIE ET ANNEXES		174
A	BIBLIOGRAPHIE	175
A I	<i>Parent-offspring competition and natal dispersal at several spatial scales in the great tit, Parus major (Article soumis à Journal of animal ecology)</i>	<i>190</i>
A II	<i>Fonction de rééchantillonnage</i>	<i>203</i>
A III	<i>The analysis of reaction norms for age and size at maturity using maturation rate models, Evolution, 2005, 59 (3), p500-506</i>	<i>204</i>
A IV	<i>Article: Adaptive Evolution of Reproductive Flexibility in a Collembola, Soumis à science 210</i>	<i>210</i>
A V	<i>Articles : Functional response: rigorous estimation and sensitivity to genetic variation in prey (Oikos, sous presse).....</i>	<i>222</i>
A VI	<i>Two major evolutionary lineages revealed by molecular phylogeny in the parthenogenetic collembolan, Folsomia candida (article invité par Pedobiologia)</i>	<i>236</i>
A VII	<i>The effect of autocorrelation in environmental variability on the establishment and persistence of populations: an experimental test, Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences, 2004, 271, pp2143-2148.....</i>	<i>246</i>
A VIII	<i>Programme d'analyse d'image.....</i>	<i>252</i>
A IX	<i>Effet de la densité et de la disponibilité des ressources sur la fécondité.....</i>	<i>253</i>

Chapitre 1 INTRODUCTION GENERALE



A L'évolution des traits d'histoire de vie

Les formes, modes et cycles de vie des organismes vivants sont extrêmement divers aussi bien entre espèces qu'au sein des espèces. L'écologie et la biologie évolutive ont comme objectifs de décrire cette variabilité, d'en appréhender ses mécanismes d'expression, d'en comprendre les origines évolutives et les bases génétiques. Tandis que la **biologie évolutive** analyse les processus évolutifs d'un point de vue essentiellement génétique, dans une perspective historique qui inclut les relations phylogénétiques entre les taxons étudiés, **l'écologie** porte une attention particulière à la manière dont les facteurs environnementaux biotiques et abiotiques contribuent aux variations observées. **L'écologie évolutive** tâche, pour sa part, d'adopter une approche qui intègre à la fois une perspective historique et phylogénétique et une prise en compte du rôle de l'environnement dans la détermination des valeurs des traits observés et dans leur variation. Plusieurs échelles sont en jeu : les traits étudiés peuvent varier au sein d'un individu au cours de sa vie, entre individus d'une même population, entre populations, et entre espèces à différents niveaux taxonomiques.

Variation et évolution sont indissociables. Les variations sont généralement observées à l'échelle du **phénotype**, c'est à dire de l'ensemble des propriétés résultant de la matérialisation physique d'un organisme. Le phénotype d'un organisme résulte de l'action du **génotype** de cet organisme - c'est à dire de l'ensemble de ses gènes – et des conditions environnementales. La sélection naturelle, le principal moteur de l'évolution, agit sur la variabilité phénotypique. Un changement évolutif sur un trait¹ peut s'opérer dès lors qu'il existe un niveau non nul de variation héritable sur le trait sélectionné.

La biologie de l'évolution s'est longtemps concentrée sur des mécanismes génétiques en n'accordant que peu d'attention à l'interaction des organismes avec leur environnement. Les approches actuelles privilégient une vision plus intégrée des facteurs génétiques et environnementaux de la variation phénotypique.

- La variabilité des phénotypes sur laquelle peut s'exercer la sélection naturelle est due à quatre catégories de facteurs (Meyers & Bull 2002). Les **conditions environnementales** vont fortement influencer la manière dont chaque individu se développe et s'organise. Des **variations génétiques** entre organismes peuvent conduire à des modifications dans les trajectoires de développement qui vont se répercuter sur le phénotype des individus. Au travers d'**effets maternels**, un organisme peut transmettre à sa descendance une certaine information liée à sa condition physiologique et aux conditions environnementales qu'il rencontre au cours de sa vie. L'efficacité de la sélection naturelle à produire un changement évolutif dépendra de la proportion de variance phénotypique d'origine purement génétique. Cette proportion de variance qui donne prise à la sélection représente **l'héritabilité** du trait. Or l'héritabilité d'un trait dépend non seulement de la diversité génétique de la population considérée mais aussi de l'ensemble des conditions environnementales dans lesquelles cette population se trouve (Via & Lande 1985 ; Scheiner 1993). Ainsi, une même population soumise à une même pression de sélection peut répondre de manière différente en terme de vitesse, d'amplitude et même de direction d'évolution du trait (Roff 2001). On ne peut donc comprendre et prédire des réponses évolutives sans prendre en compte le contexte environnemental.
- Le phénotype des individus est déterminé par leur génotype, les conditions environnementales et l'interaction entre génotype et environnement. Comme nous venons de l'indiquer, des conditions environnementales émanent des pressions de sélection qui s'exercent sur l'ensemble des phénotypes et causent une réponse évolutive si le trait est héritable. Cette sélection se traduit par une modification des propriétés des individus et des caractéristiques démographiques de la population. Or un certain nombre de propriétés environnementales

¹ Par un léger abus de langage mais dans le souci d'alléger le texte, nous utiliserons le mot "trait" dans le sens de "valeur du trait".

sont elles-mêmes directement ou indirectement déterminées par les phénotypes présents et les caractéristiques des populations. L'environnement change alors et avec lui la nature et les propriétés des pressions de sélection qu'il exerce sur l'individu. Une **boucle de rétroaction éco-évolutive** s'instaure ainsi (Metz, Nisbet et al. 1992 ; Heino, Metz et al. 1998). Un exemple d'un tel type de boucle de rétroaction met en jeu la densité dépendance (Mylius & Diekmann 1995). La quantité de ressources disponible est un facteur important de sélection qui va modifier la démographie et la densité des individus ce qui en retour affecte la dynamique et la distribution des ressources. Ainsi la topographie du paysage adaptatif reflète la direction et l'intensité des pressions de sélection et se trouve en retour indirectement déterminée par celles-ci (Rueffler, Van Dooren et al. 2004).

L'importance désormais reconnue de prendre en compte les effets de l'environnement et de leur interaction avec les génotypes dans l'étude de l'évolution des traits d'histoire de vie est soulignée par un changement de perspective conceptuelle au cours des vingt dernières années. L'organisation des ouvrages de synthèse dans le domaine est passée d'une vision fondée sur l'étude relativement disjointe des mécanismes et conditions d'évolution des principaux traits d'histoire de vie (Stearns 1992) à une vision axée sur la manière dont les conditions environnementales constantes, stochastiques ou prédictibles affectent les processus d'évolution (Roff 2001).

A I Objets d'étude

Étudier l'évolution nécessite de s'intéresser à la **valeur sélective** (ou fitness) des individus. Celle-ci représente la capacité d'un génotype à contribuer par ses gènes à la constitution future du pool génique de la population. C'est une valeur relative aux conditions environnementales biotiques et abiotiques. La variation de certains traits peut modifier fortement et directement la valeur sélective. Ces traits, appelés "**traits d'histoire de vie**", vont affecter les capacités et patrons de reproduction et de survie. Ce sont par exemple les paramètres de croissance, la taille adulte, l'âge et la fécondité à maturité et plus généralement la fréquence, l'intensité et l'organisation temporelle des événements de reproduction, la qualité des jeunes produits, le taux de survie et la manière dont icelui varie avec l'âge (vieillessement).

L'étude de l'évolution des traits d'histoire de vie consiste à identifier et analyser les facteurs ultimes qui régissent la transformation de l'énergie acquise par un organisme en croissance, maintenance et reproduction depuis leur naissance jusqu'à leur mort (Kozłowski 1992 ; Cichon 1997 ; Heino & Kaitala 1999 ; Cichon 2001).

○ Héritabilité

La variabilité exprimée de ces traits est, comme nous l'avons vu, multifactorielle (facteurs génétiques et environnementaux, effets maternels, bruit développemental). La part de variation interindividuelle d'un trait due à des effets génétiques représente l'**héritabilité** de ce trait. L'héritabilité au sens strict représente la proportion de la variance phénotypique d'un trait due à des effets génétiques additifs (Lynch & Walsh 1998).

Comprendre l'évolution nécessite de pouvoir mesurer l'héritabilité des traits étudiés. Cela se fait généralement en utilisant la technique des "jardins communs" qui consiste à faire croître et se développer différents génotypes dans des conditions environnementales contrôlées et standardisées afin d'estimer, grâce aux méthodes de la génétique quantitative, la part de variabilité des traits observés due aux variations génétiques entre les génotypes étudiés (Lynch & Walsh 1998). L'utilisation des régressions "parent-enfant" permet d'estimer la similarité génétique entre les parents et leurs jeunes et ainsi de mesurer l'héritabilité du trait auquel on s'intéresse (Falconer & MacKay 1996 ; Lynch & Walsh 1998). Cependant ce type d'approche pose de nombreux problèmes : lorsque les mesures sont faites au même moment, les parents sont nécessairement plus âgés que leurs enfants et l'héritabilité mesurée peut alors être influencée par des effets d'âge ou bien par le fait que les parents peuvent avoir été soumis à une sélection. Si les mesures sont faites au même âge, le temps correspondant à la génération

séparant parent et enfant peut aussi biaiser les mesures effectuées. De plus dans ce type d'approche il est extrêmement difficile de s'affranchir de l'influence d'effets maternels susceptible d'entacher fortement la mesure de l'héritabilité des traits. Les espèces se reproduisant par parthénogenèse (facultative ou non) échappent toutefois à ces difficultés puisque chaque génotype peut être cloné autant de fois que nécessaire, et ainsi être répliqué et mesuré plusieurs fois dans différents environnements. La variance génétique peut alors être estimée directement et simplement (par exemple Ebert 1991 ; Lynch & Walsh 1998).

Les traits d'histoire de vie, directement associés à la valeur sélective des individus, sont soumis à une sélection directionnelle forte (Mousseau & Roff 1987). Par conséquent, leur niveau de variabilité génétique doit être plus faible que celui des traits moins étroitement liés à la valeur sélective ; le niveau moyen de leur héritabilité est donc relativement faible (Fisher 1930). La mesure empirique a confirmé que l'héritabilité des traits d'histoire de vie était en moyenne plus faible que l'héritabilité de traits physiologiques, comportementaux ou morphologiques (Mousseau et Roff, 1987).

○ Héritabilité et environnement

L'héritabilité augmente si les effets génétiques influençant la variance phénotypique augmentent ou bien si les autres composantes de la variance tels que les effets dus à l'environnement diminuent. Ainsi, si des variations d'héritabilité sont le plus souvent associées à des différences d'effet génétique, l'effet de variations environnementales est aussi déterminant. En considérant simplement deux environnements contrastés, favorable et défavorable, plusieurs schémas hypothétiques prédisent différents niveaux de variabilité génétique des traits dans ces environnements (Hoffmann & Merilä 1999).

Un premier ensemble d'hypothèses prédit une augmentation du niveau d'héritabilité dans des conditions défavorables. Dans des conditions stressantes, les taux de mutation et de recombinaison sont susceptibles d'augmenter, accroissant de fait le niveau de la variabilité génétique dans ces conditions. Il est classiquement admis que la sélection va diminuer le niveau de variabilité génétique en éliminant tous les allèles associés à une valeur sélective réduite. On peut s'attendre à ce que le niveau de variabilité génétique existant dans une population soit d'autant plus réduit que les conditions environnementales dans lesquelles elle est mesurée surviennent fréquemment. Ainsi pour une population qui évolue le plus souvent dans des conditions favorables, la sélection va éliminer plus rapidement la variabilité génétique exprimée dans cet environnement que celle d'un environnement défavorable moins fréquemment rencontré.

La variabilité génétique d'un trait peut au contraire diminuer dans des conditions défavorables. Ceci peut être dû à une augmentation de la variance environnementale ou bien au fait que le potentiel génétique des individus ne soit pas réalisé, signifiant que l'expression phénotypique est essentiellement déterminée par des facteurs limitants du milieu. Il en est ainsi par exemple lorsque des traits tels que la vitesse de croissance ou la fécondité possèdent une variabilité génétique mais ne sont plus exprimés en conditions stressantes (croissance et reproduction très ralentie voire arrêtée).

Les erreurs de mesures peuvent aussi contribuer à modifier l'héritabilité d'un trait entre différents environnements. Si le niveau moyen d'un trait diminue en conditions défavorables (fécondité) alors que l'erreur de mesure associée à ce trait reste constante, la proportion de variance phénotypique augmente en conditions défavorables, et l'estimation de l'héritabilité du trait s'en trouve être réduite.

Enfin, il est important de considérer l'interaction possible des effets génétiques sur la moyenne d'un trait et sur sa plasticité. Lorsque la plasticité dépend de la valeur moyenne d'un trait, et pour des normes de réaction linéaires, l'héritabilité dépend fortement des conditions environnementales dans lesquelles elle est mesurée sans que cela soit lié a priori à des conditions favorables ou stressantes.

○ Plasticité et flexibilité

Les conditions de vie des organismes varient dans le temps et dans l'espace. En réponse à ces variations, on observe des stratégies mettant en jeu plasticité phénotypique, effets maternels et

variabilité génétique. La **plasticité phénotypique**, c'est à dire la capacité pour un génotype de s'engager dans des trajectoires de développement différentes en fonction des conditions environnementales, permet la production d'un ensemble de phénotypes à partir d'un seul génotype (Scheiner 1993). Cette plasticité du développement, si elle possède une valeur adaptative évidente, est généralement irréversible. Lorsque les conditions environnementales changent rapidement et fréquemment au cours de la vie d'un individu, la sélection peut favoriser des processus de modification réversible des caractéristiques phénotypiques (Piersma & Drent 2003). On parle alors de **flexibilité phénotypique**.

○ Plasticité et norme de réaction

La plasticité phénotypique associe une variance des traits à la variance de l'environnement. La mesure de l'héritabilité d'un trait plastique se trouve réduite si le trait est mesuré sur une population confrontée à une certaine gamme de conditions environnementales. Une mesure d'héritabilité ne peut donc être effectuée que sur une partie aussi restreinte que possible de l'espace des conditions environnementales, et la valeur mesurée n'est valable que pour les conditions environnementales de la mesure (Falconer & MacKay 1996). Si la plasticité phénotypique varie entre génotypes, la variance non génétique du trait étudié diffère entre environnements, conduisant à des héritabilités différentes entre environnements. Ces considérations ont conduit à étudier la relation entre l'héritabilité d'un trait plastique, sa valeur moyenne et la valeur de variance environnementale (de Jong 1990).

C'est en 1909 que Woltereck introduisit le concept de norme de réaction (Woltereck 1909), ayant observé qu'un génotype - il faisait référence à des clones de daphnies dont il mesurait la taille du casque sous différents régimes nutritifs - n'est pas caractérisé par une valeur phénotypique mais par la manière dont la valeur phénotypique change en fonction de l'environnement. Une norme de réaction est ainsi définie comme la réponse systématique de l'expression d'un caractère phénotypique à une modification systématique d'une variable environnementale (de Jong 1990). Un génotype est alors spécifié par la fonction reliant l'expression moyenne du trait à la valeur de la variable environnementale. Les variations génétiques de la plasticité phénotypique correspondent à des variations de cette fonction dans l'ensemble des génotypes.

La notion de norme de réaction aide à organiser l'étude des interactions génotype $\times$ environnement : si les normes de réaction de plusieurs génotypes sont parallèles, la variance génétique est indépendante de l'environnement et la plasticité phénotypique (qui existe si les normes de réaction ne sont pas plates) entraîne un changement de la variance environnementale. Si les normes de réactions ne sont pas parallèles, cela signifie que les différents génotypes réagissent différemment aux variations environnementales. Il existe alors une variance génétique sur la plasticité phénotypique. La plasticité est dès lors un trait héritable qui peut évoluer sous l'action de la sélection naturelle.

○ Héritabilité de la plasticité

La plasticité phénotypique se prête à différents types de mesure. La différence entre les valeurs d'un trait dans deux environnements peut être analysée comme un trait d'histoire de vie en soi (Scheiner & Lyman 1991). Il est alors possible d'estimer une composante de la variance associée à ces différences dans un modèle linéaire mixte en utilisant des méthodes de maximum de vraisemblance. Selon la terminologie de Scheiner, cette estimation permet de mesurer **l'héritabilité de la plasticité** (H^2_{pl}) (de Jong 1990 ; Scheiner & Lyman 1991). La procédure précise utilisée dans ce document pour estimer les héritabilités des traits et de leur plasticité est détaillée ci-dessous dans le Chapitre 1C III, page 20.

○ Compromis et coût de la reproduction

Si tous les traits soumis à sélection évoluaient indépendamment les uns les autres, la sélection favoriserait rapidement des individus qui se reproduiraient dès la naissance, auraient une survie infinie, et produiraient un nombre infini de jeunes tout au long de leur vie. Le fait que de tels « monstres darwiniens » n'existent pas (encore) est classiquement avancé pour illustrer le fait que les

combinaisons de valeurs de traits d'histoire de vie ne sont pas toutes possibles à causes des compromis ou "trade-offs" qui s'établissent entre eux sur une base génétique ou physiologique. Reznick et al. (2004) utilisent de manière équivalente les notions de "compromis" et de "coût de la reproduction". Cette dernière fut introduite par Lack lors des premières études sur les facteurs déterminant l'ajustement de la taille de ponte des oiseaux (Lack 1947) puis raffinée par Williams (Williams 1966) : l'investissement dans la reproduction peut entraîner un ensemble de coûts en terme de survie et reproduction future, réduisant le succès reproductif total des individus. On parle de coût de la reproduction dès lors qu'il existe une interaction antagoniste entre des facteurs affectant la reproduction et d'autres traits d'histoire de vie impliquant la survie (Tatar, Carey et al. 1993 ; McCleery, Clobert et al. 1996 ; Orell & Belda 2002) ou la reproduction future (Baron, Ferrière et al. 1996).

La multiplicité des stratégies adaptatives et la diversité des profils d'histoire de vie dans la nature provient du fait que les traits considérés ne sont pas hérités comme des entités indépendantes. Les gènes impliqués dans l'expression des traits d'histoire de vie sont sans doute partagés entre traits (Bertran, Santos et al. 1998 ; Shirley & Sibly 1999). Ainsi la réponse d'un trait à la sélection dépend de la pression de sélection et de son héritabilité propre mais aussi de la réponse d'autres traits génétiquement corrélés à des pressions de sélection éventuellement différentes. Étudier l'évolution des traits d'histoire de vie requiert donc de mesurer la matrice de variance et de covariance génétique de ces traits (Spitze, Burnson et al. 1991 ; Spitze 1995 ; Roff 2001).

○ Corrélations génétiques

On considère généralement que différentes composantes de la valeur sélective devraient, sous l'effet de corrélations génétiques, s'influencer négativement. Une telle pléiotropie antagoniste entre ces traits suppose que des allèles contribuant positivement à différents traits associés à la valeur sélective devraient être rapidement fixés et que ceux qui contribuent négativement sont rapidement éliminés. Ainsi ne devraient persister à des fréquences intermédiaires que les allèles qui contribuent positivement à un trait et négativement à un autre (Roff 1996 ; Merila & Sheldon 1999). De telles corrélations génétiques négatives entre composantes de la valeur sélective ont été décrites par exemple entre la fécondité précoce et la longévité chez *Drosophila melanogaster* (Rose & Charlesworth 1981). Certains travaux ne sont pourtant pas parvenus à mettre en évidence cette corrélation génétique négative ; parfois même, les corrélations observées sont positives, par exemple entre reproduction présente et future chez un rotifère (Bell 1984 ; Bell 1984) ou entre différentes composantes de la valeur sélective chez des daphnies (Spitze, Burnson et al. 1991).

Des corrélations positives peuvent s'expliquer par la consanguinité des individus. Plus généralement, les organismes étudiés n'ont pas évolué dans les conditions auxquelles ils sont soumis au laboratoire de sorte que certains génotypes peuvent se révéler par chance particulièrement bien adaptés à ces nouvelles conditions (Service & Rose 1985). Ainsi dans un environnement nouveau, Service et Rose (1985) montrent que l'héritabilité de la fécondité et de la résistance à l'absence de nourriture est plus faible, de même que la corrélation génétique liant ces deux caractères.

En général, on mesure une association entre les valeurs génétiques de deux traits par un coefficient de corrélation (corrélation génétique). Une corrélation génétique non nulle peut être le fait comme nous l'avons vu d'une pléiotropie entre les deux traits, mais aussi d'un déséquilibre de liaison. On néglige généralement ce dernier car le type d'association qui en résulte peut être cassé en quelques générations (Roff, 2002).

La corrélation couramment observée entre deux traits n'est pas génétique mais phénotypique. La **corrélation phénotypique** est une fonction complexe de la corrélation génotypique entre les traits et d'une corrélation phénotypique non génétique qui intègre les relations physiologiques entre les traits. L'existence et le sens d'une corrélation phénotypique n'est pas à même de nous renseigner de manière fiable sur l'existence et l'importance des compromis sous-jacents (Reznick 1985 ; van Noordwijk & de Jong 1986 ; Roff 1996). Cette corrélation phénotypique doit être décomposée en corrélation génétique

et corrélation phénotypique non génétique que nous nommerons **corrélation phénotypique intra-génotype** ou **intra-clone** dans le cas d'une espèce parthénogénétique. La méthode utilisée pour cette décomposition est détaillée ci-dessous dans la partie Chapitre 1C III 3), page 21.

A II Méthodes d'études

On peut distinguer cinq grand types d'approches méthodologiques classiques pour l'étude de l'évolution des traits d'histoire de vie.

A II 1) Approches purement corrélatives

L'approche corrélative s'intéresse à l'évolution des traits d'histoire de vie tels qu'on peut les mesurer dans les populations naturelles. Certains grands projets écologiques à long terme ont permis d'accumuler une masse considérable de données, s'appuyant sur des techniques de marquage qui permettent de suivre l'histoire d'un grand nombre individus. De tels suivis individuels longitudinaux sont essentiels pour étudier les compromis du cycle de vie, en mettant par exemple en relation la fécondité ou l'effort reproducteur précoce avec le profil de survie. Le suivi quasi exhaustif des populations de mésanges nichant dans le bois de Wytham près d'Oxford au Royaume-Uni est emblématique de ce type d'approche (Perrins 1979). Toutes les mésanges nées dans le bois et les adultes reproducteurs sont marqués individuellement et suivis tout au long de leur vie dans le bois. Chaque mésange est connue comme résidente (née dans le bois) ou immigrante (mésange née hors du bois et venue se reproduire dans le bois). Pour les mésanges résidentes, l'identité, l'âge et la condition des parents est connue. Pour quasiment chaque mésange on connaît l'âge de première reproduction et le nombre d'évènements de reproduction qu'elle a accomplis. Une telle base de données permet de rechercher la marque d'un coût de la reproduction en fonction de l'âge en étudiant par exemple si la survie tardive des individus est affectée négativement par la précocité de leur première reproduction (Abrams 1991 ; McCleery, Clobert et al. 1996). D'autre part il est possible de rechercher des effets maternels sur différents traits tels que la dispersion natale (Ronce, Clobert et al. 1998).

La portée des approches corrélatives réside dans les descriptions fidèles des processus biologiques naturels qu'elle permettent. Cependant, l'absence de contrôle des conditions environnementales qui leur est inhérente impose que ces conditions soient quantifiées et modélisées dans toute la mesure du possible afin de se préserver autant que faire se peut d'éventuels effets confondants. Nous avons procédé ainsi pour l'étude de l'influence potentielle de la compétition entre parents et enfants comme force promouvant la dispersion natale (Hamilton & May 1977). Les résultats de cette étude sont exposés dans le Chapitre 7A I. Notons cependant que les études corrélatives sont toujours limitées par la qualité des preuves scientifiques qu'elles produisent (Fagot-Largeault 2003). L'approche expérimentale reste essentielle à l'établissement d'un fait scientifique de qualité. Les principaux types d'approches expérimentales mises en œuvre pour l'étude de l'évolution des traits d'histoire de vie sont présentés ci-après.

A II 2) Manipulations environnementales

La manipulation de l'environnement externe de l'organisme d'étude vise à provoquer une modification de son investissement dans la reproduction permettant alors d'observer les corrélations générées avec d'autres traits (Chippindale, Leroi et al. 1993 ; Sinervo & Basolo 1996). La manipulation peut agir directement sur l'organisme. Par des méthodes de castration, par exemple, la reproduction peut être complètement stoppée. Ce type de manipulation démontre en général une augmentation de la survie chez les individus manipulés (Finch & Rose 1995). Le coût de la reproduction lié à l'élevage des jeunes peut être artificiellement augmenté ou réduit en augmentant ou diminuant le nombre de jeunes dans une portée. Généralement une augmentation de l'effort reproducteur parental s'accompagne d'une diminution de la survie des animaux manipulés et inversement (Messina & Slade 1999 ; Stevenson & Wilson 2001 ; Visser & Lessells 2001). L'effort reproducteur peut aussi s'étudier en manipulant le

système hormonal de l'organisme (Sinervo & Svensson 1998 ; Dufty, Clobert et al. 2002), par des techniques d'ingénierie phénotypique.

Cette approche a été critiquée par divers auteurs (Reznick 1992) mais est farouchement défendue par d'autres (Sinervo & Svensson 1998).

A II 3) Analyses physiologiques

L'approche physiologique consiste à mesurer directement la quantité d'énergie allouée aux fonctions de reproduction et de la comparer aux autres activités métaboliques. Par ainsi a-t-on pu mesurer chez certains vertébrés la quantité de joules associée à un comportement de cour ou de recherche de partenaire ou à la production d'œufs lors d'un événement de reproduction. On utilise pour cela des techniques de mesures calorimétriques, d'eau marquée (Masman, Dijkstra et al. 1989) ou de dosage du contenu énergétique des œufs ou du sperme (Rahn, Sotherland et al. 1985 ; Ernande, Boudry et al. 2004).

Les ressources impliquées dans l'expression des traits d'histoire de vie ne sont pas seulement énergétiques. Acides aminés, acides gras, vitamines ou oligoéléments peuvent aussi agir comme ressource limitante. La comparaison de l'effet d'un enrichissement de l'alimentation en énergie ou éléments rares sur l'investissement dans la reproduction permet d'en décider (Pangantihon-Kuhlmann, Millamena et al. 1998 ; Perez-Velazquez, Gonzalez-Felix et al. 2003).

A II 4) Les expériences de sélection

Les expériences de sélection occupent une place centrale dans l'atelier méthodologique du biologiste de l'évolution. Les populations sont élevées au laboratoire en conditions contrôlées. L'approche classique consiste à maintenir plusieurs répliques de lignées de l'organisme d'étude, en utilisant un grand nombre d'individus afin de réduire les effets potentiels de la consanguinité. Une partie de ces lignées est soumise à un traitement sélectif, le reste servant de contrôle.

Si les expériences de sélection peuvent révéler la variance génétique additive sur l'expression du trait sélectionné, le plan expérimental ne permet pas toujours d'estimer l'ampleur de cette variation génétique. En effet lors d'expérience de sélection sur des traits tels que la longévité, les œufs sont en général collectés en masse sans que l'on connaisse les femelles qui les ont pondus ni donc les valeurs des traits d'histoire de vie de ces dernières. Ainsi le différentiel de sélection et les héritabilités réalisées ne sont ni connus, ni contrôlés (Curtisinger, Fukui et al. 1995).

D'autre part, la comparaison des résultats de nombreuses expériences de sélection montre de grandes disparités dans les traits secondaires sélectionnés même lorsque les expériences de sélection sont identiques (Harshman & Hoffmann 2000). Les causes possibles de cette hétérogénéité sont nombreuses.

Une expérience de sélection peut promouvoir des traits que l'expérimentateur ne contrôle pas. L'interprétation des corrélations entre traits est alors rendue délicate. Dans les expériences de sélection sur la longévité par exemple, la durée de vie mais aussi la fertilité tardive sont sélectionnées, générant des corrélations génétiques positives qui ne traduisent pas forcément la structure génétique des traits dans les populations naturelles (Partridge, Prowse et al. 1999). La sélection de souches pondant des œufs de petite taille conduit à sélectionner en même temps des individus de moins bonne qualité investissant moins dans la reproduction au risque probable de masquer des compromis tels que entre nombre et taille des œufs (Schwarzkopf, Blows et al. 1999).

La dépression de consanguinité qui peut résulter d'une taille de population trop réduite complique aussi l'interprétation des expériences de sélection.

Lorsque la mesure des traits sélectionnés ne se fait pas dans conditions environnementales strictement identiques à celles dans lesquelles la sélection s'est effectuée, les corrélations génétiques observées peuvent être trompeuses. En effet, la valeur des corrélations génétiques entre traits peut dépendre

fortement des conditions environnementales et donc changer voire disparaître lors de la mesure (Leroi, Chippindale et al. 1994).

L'hétérogénéité des mesures des mêmes corrélations peut résulter de la contingence de la composition génétique des différentes populations à partir desquelles les expériences ont été réalisées (Hoffmann & Merilä 1999). Ces différences peuvent en outre conduire à la sélection directe pour une même réponse phénotypique de différents gènes entraînant par là même différents effets pléiotropiques (Gromko 1995).

Lorsque les populations expérimentales sont directement issues de populations naturelles certains génotypes peuvent se révéler par chance particulièrement bien adaptés aux conditions environnementales et se trouver de ce fait sélectionnés (Service & Rose 1985). Ainsi la pression de sélection appliquée par l'expérimentateur risque-t-elle de se confondre avec une sélection pour la domestication des souches et l'adaptation de la population étudiée à son nouvel environnement.

Une autre approche d'étude de l'évolution des traits d'histoire de vie consiste à utiliser et comparer des lignées génétiques distinctes. Leur particularité et leur homogénéité génétique sont contrôlées en utilisant des lignées consanguines ou des lignées dont on a transformé ou manipulé le génome. Cependant dans les deux cas, de telles lignées sont très artificielles et les extrapolations que l'on peut faire de leur étude aux populations naturelles sont sujettes à caution. Reste alors la possibilité de comparer des lignées génétiques homogènes distinctes, d'origine naturelle (Smitherman, Dunham et al. 1996 ; Tatar 2000). Pour cela les espèces parthénogénétiques et clonales fournissent un matériel de choix.

A II 5) La génétique quantitative

Les expériences de jardin commun dans lesquelles le phénotype des individus est mesuré dans des conditions environnementales contrôlées et standardisées permettent d'estimer la proportion de variance génétique d'un trait. On peut pour cela comparer le phénotype de génotypes dont l'apparement est connu (parents enfants, ou fratries) mais l'apparement génétique entre individus est alors confondu avec des effets maternels communs sauf chez des lignées clonales pour lesquelles il est possible de contrôler et de standardiser les effets maternels ; la ressemblance des individus au sein d'un clone est alors directement imputable à des facteurs génétiques partagés.

B Nos axes de recherche

L'objectif général du travail présenté par après est de comprendre comment, chez une espèce donnée, s'organisent les variations des valeurs des traits d'histoire de vie à différentes échelles, au sein d'un individu au cours de sa vie, entre individus issus d'un même génotype, et entre génotypes différents. Pour une compréhension a minima de l'influence de l'environnement, nous contrasterons systématiquement l'effet de deux types de conditions environnementales. Ces conditions portent sur la **quantité de ressources disponibles**, élément clef des processus de densité dépendance le long de la boucle de rétroaction éco-évolutive qui enchaîne les traits d'histoire de vie considérés.

Pour analyser les contraintes entre traits et prédire les directions potentielles de leur évolution, nous adopterons une approche multivariée qui permet de décrire l'architecture corrélative phénotypique et génétique entre traits. Nous tenterons d'apporter des éléments de réponses aux questions suivantes :

- Quels types de corrélations existent entre différents traits d'histoire de vie ?
- Ces corrélations correspondent-elle à des compromis ?
- Reposent-elle sur des corrélations physiologiques entre différentes fonctions ou bien sur des contraintes génétiques ?
- De quelle manière les conditions environnementales modifient-elle l'architecture corrélative des traits d'histoire de vie ?
- Quel est le degré de plasticité et de flexibilité des traits d'histoire de vie ?

- Ces réponses aux changements de conditions environnementales sont-elles adaptatives ?
- Existe-t-il des différences génétiques entre clones sur l'intensité ou le sens de ces réponses ?
- Les individus sont-ils capables de modifier l'allocation de ressource entre différents traits en fonction des conditions environnementales ?
- Existe-t-il des contraintes entre la valeur d'un trait et sa plasticité ?

Ces questions seront déclinées sur trois thèmes majeurs de l'étude de l'évolution des traits d'histoire de vie : l'analyse des compromis entre **l'âge et la taille à maturité**, entre le **nombre et la taille des jeunes** et entre la **survie et la reproduction**. Ces trois thématiques seront abordées dans cet ordre, qui se déroule selon la chronologie du cycle de vie de notre organisme modèle.

B I Méthodes d'étude

Étant données les limites auxquelles se heurtent les études de sélection menées en laboratoire, nous avons choisi d'utiliser dans notre étude une approche comparative consistant à étudier en conditions contrôlées l'expression de divers traits d'histoire de vie de lignées génétiques distinctes. Comme nous l'avons signalé ci-dessus, l'étude de la variance génétique des traits d'histoire de vies est généralement facilitée par l'utilisation d'organismes modèles à reproduction asexuée.

De nombreux arthropodes possèdent la capacité de se reproduire par parthénogenèse. Les pucerons et les daphnies par exemple présentent des phases de reproduction clonale qui se prêtent au contrôle de l'expérimentateur. Les travaux qui ont utilisé ces espèces pour mesurer la variabilité génétique de plusieurs traits d'histoire de vie ne sont pas rares (Glazier 1992 ; Glazier & Calow 1992 ; Ebert, Yampolsky et al. 1993 ; Ebert, Yampolsky et al. 1993 ; Barata & Baird 1998).

Les collembolles forment un groupe d'une dizaine de milliers d'espèces appartenant aux Hexapodes. Bien que plusieurs d'entre elles possèdent une reproduction clonale (Hopkin 1997) et en font donc de bons candidats pour devenir des organismes modèles dans l'étude de l'évolution des traits d'histoire de vie, les travaux effectués chez ce groupe dans cette perspective restent très rares (Stam, Van De Leemkule et al. 1996). Ceci est d'autant plus regrettable que les collembolles forment un groupe phylogénétique distinct des groupes auxquels appartiennent les organismes modèles traditionnels de l'écologie évolutive; ils sont donc susceptibles d'élargir la portée de notre compréhension des processus éco-évolutifs.

Notre organisme d'étude est le collembolle *Folsomia candida* (Figure 1). Cette espèce nous offre de nombreux avantages. Facile à élever, l'ensemble de ses stades de vie sont accessibles à l'observation (Chapitre 2). Sa reproduction est strictement parthénogénétique en laboratoire. Il est donc aisé de quantifier la part de variance d'un trait due à des effets génétiques, maternels, environnementaux ou autres. Nous avons récolté 11 populations à partir desquelles des lignées clonales isogéniques ont été formées. La démarche que nous avons adoptée consiste à comparer les valeurs de plusieurs traits d'histoire de vie exprimées par chacun des clones dans différents environnements et de rechercher les covariations génétiques et phénotypiques qui structurent ces traits. S'il s'avère que la parthénogenèse est obligatoire chez cette espèce, aucun brassage génétique n'a pu avoir lieu depuis la séparation des différentes lignées. Du point de vue évolutif cette approche est donc pertinente tant pour la comparaison de populations au sein d'une espèce que pour l'analyse comparative d'espèces différentes au sein d'un groupe taxonomique.

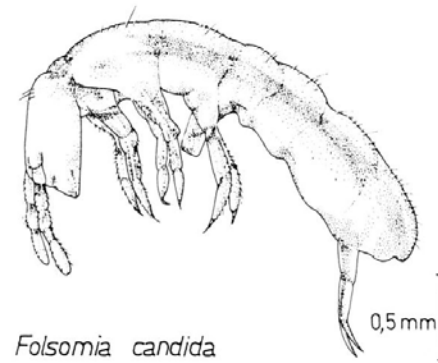


Figure 1 *Folsomia candida*, un organisme modèle. Plusieurs adultes de *Folsomia candida* dans une boîte d'élevage près d'un groupe de pontes². À droite, dessin d'observation d'un adulte tiré de Vannier et Kilbertus (1984).

B II Croissance et maturation

Les activités humaines exercent de fortes contraintes sur les écosystèmes et bouleversent la démographie des populations, leur connectance, leurs capacités de dispersion et altèrent profondément la nature, la composition qualitative et quantitative et la dynamique des communautés. Mais ce n'est que depuis peu que l'on s'intéresse aux changements évolutifs que peuvent entraîner les activités humaines sur les populations sauvages (Palumbi 2002).

Un exemple marquant concerne l'influence des pressions extrêmes des pêcheries sur les populations de poissons. Chez la morue *Gadus Morhua* (Figure 2), un déclin rapide des stocks de Terre Neuve dans les années 1970 fut suivi par leur effondrement complet au début des années 1990. Il a récemment été montré que la pression de sélection exercée par la pêche sur les populations de morue n'a pas qu'un impact démographique ; elle est la cause d'une évolution des traits d'histoire de vie de ces poissons. En augmentant fortement la mortalité des adultes, les individus ayant une maturation précoce à petite taille ont été avantagés et l'âge et la taille à maturité de cette espèce ont évolué vers des valeurs réduites (Law 2000 ; Hutchings 2004 ; Olsen, Heino et al. 2004). L'intérêt de l'étude de l'évolution des traits d'histoire de vie que sont l'âge et la taille à maturité revêt alors une importance particulière. La prise en compte des conditions environnementales sur le potentiel évolutif de ces traits est primordiale. Nous avons vu que l'héritabilité de tels traits peut varier fortement en fonction des conditions environnementales. Dès lors, on peut se demander comment l'héritabilité de l'âge et la taille à maturité change en fonction de la quantité de ressources, elle-même dépendante de la taille des populations. Si l'héritabilité est plus faible lorsque les ressources sont abondantes, on peut prédire que l'effet de la sélection exercée par la pêche sera limité tant que les stocks de ces populations resteront faibles. La vitesse d'évolution de l'âge et de la taille à maturité diminuera et la valeur des traits se stabilisera. Si en revanche l'héritabilité de ces traits augmente lorsque la taille des populations est réduite, l'effet de la pression de sélection de la pêche augmentera et les changements évolutifs se renforceront

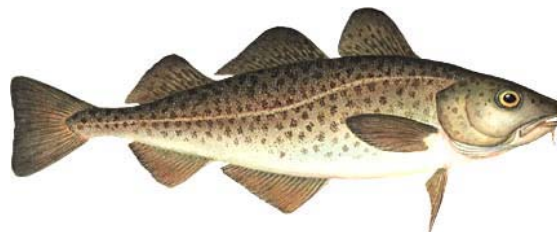


Figure 2 "La morue ou cabillaud de l'Atlantique (*Gadus morhua*). La morue appartient à la famille des Gadidés qui comprend quelque 60 espèces. Tout comme l'aiglefin, le lieu noir ou goberge, le merlan et la merluche, elle a une chair blanche, tendre, floconneuse et délicieuse. © Brenda Guild Gillespie"

² Sauf mention contraire, toutes les photos présentées dans ce document ont été prises par l'auteur.

À l'aide de notre modèle expérimental, nous allons dans une première partie nous intéresser à la relation entre la trajectoire de croissance et la transition que représente la maturation. Nous nous attacherons à déterminer la manière dont (1) les conditions environnementales liées à la disponibilité des ressources alimentaires, (2) la variance génétique associée à ces traits et (3) l'interaction entre cette variance et l'environnement, influent sur l'expression de ces traits.

B III Allocation et partage

Si, comme nous venons de le voir, l'homme peut profondément modifier les caractéristiques des populations de poissons par une surpêche, il peut aussi aider les populations à se reconstituer. Afin d'augmenter la taille des populations de poissons d'intérêt économique dans les rivières, il est courant de capturer, dans les cours d'eau naturels, des femelles de saumons ou de truite par exemple afin de les faire pondre dans des nurseries avant de les relâcher. Les œufs éclosent dans ces nurseries et les alevins seront élevés quelques temps dans des bassins artificiels avant d'être relâchés dans les cours d'eau. Cette pratique permet de réduire fortement la mortalité naturelle très importante des premiers stades de vie de ces espèces. Or il a été récemment démontré que de telles pratiques peuvent entraîner des modifications profondes et durables des traits d'histoire de vie de ces espèces. Pour une quantité de ressources investies dans la reproduction, il existe un compromis entre le nombre et la taille des jeunes qu'une femelle peut produire. Des corrélations négatives entre ces deux traits ont été observées en comparant par exemple diverses espèces d'insectes (Berrigan 1991) ou diverses espèces de poissons (Elgar 1990). Ainsi que nous le verrons, la théorie prédit que, pour des conditions environnementales données, il existe une seule taille optimale d'œufs (Smith & Fretwell 1974). Or les écloséries de poissons sauvages vont modifier ces conditions environnementales et de ce fait les pressions de sélection façonnant la taille des œufs. Il a ainsi pu être montré récemment que les écloséries de Colombie Britannique de Saumon Royal (*Oncorhynchus tshawytscha*) ont été à l'origine, en quelques dizaines d'années, d'une réduction adaptative de la taille moyenne des œufs (Heath, Heath et al. 2003). Ce changement est source de menace pour les populations naturelles dont il met en danger le degré d'adaptation locale. Dans ce contexte se pose la question générale de l'évolution de l'investissement dans la reproduction et du partage de cet investissement. Quelles sont les contraintes génétiques et physiologiques canalisant l'évolution de ces traits ? Quels sont les degrés de plasticité voire de flexibilité de l'investissement et du partage des ressources dans la reproduction ? Cette plasticité est-elle adaptative et de quelle manière interfère-t-elle avec l'évolution de la moyenne des traits ?

B IV Survie et reproduction

Âgé de 47 ans, Montaigne indiquait dans les Essais (Montaigne 1595), qu'il avait atteint « *un âge auquel peu de gens arrivent* » et que « *mourir de vieillesse est une mort rare, singulière et extraordinaire* ». La situation démographique de l'espèce humaine a depuis fortement changé. L'allongement de la durée de la vie et les conséquences sociales et médicales du vieillissement des populations concernent la société entière, actuelle et future³ (Baulieu 2002 ; Mamou 2003). L'identification des facteurs génétiques et environnementaux déterminant la longévité, mais aussi la manière donc les fonctions physiologiques se modifient et finalement se dégradent avec l'âge devient une préoccupation biologique, médicale et sociale essentielle. La recherche en écologie évolutive peut contribuer activement à identifier ces facteurs et améliorer la compréhension des mécanismes proximaux et ultimes du vieillissement.

Au cours de ce travail, nous analyserons les patrons de vieillissement touchant les fonctions de reproduction et de survie de notre organisme modèle, afin d'en dégager les facteurs génétiques et environnementaux.

³ La France compte actuellement 12 millions de personnes de plus de 60 ans (21 % de la population) et en comptera 24 millions en 2050.

C Outils statistiques

Dans la plupart des expériences menées dans ce travail, le type de données récoltées, la structuration des données à plusieurs niveaux emboîtés, la présence de facteurs manipulés et aléatoires, la présence de nombreuses données répétées et les corrélations intrinsèques entre variables nous ont conduit à utiliser des techniques statistiques plus poussées que les modèles linéaires classiques. Afin de faciliter la compréhension des analyses qui vont suivre, nous allons brièvement rappeler le principe et la démarche suivis dans les différents types d'analyses utilisées.

L'ensemble des analyses statistiques et des graphiques présentés ont été réalisés au moyen de la version 1.8 du logiciel R (Thaka & Gentleman 1996), clone libre de S-Plus, disponible sur <http://r-project.org>.

C I Visualisation des données

Afin de faciliter la visualisation de patrons dans les données présentées nous avons utilisé des ellipses de contours à 95%. Pour mettre en évidence d'éventuelles non linéarités entre couples de variables, nous avons fait usage de courbes de régressions locales pondérées, ajustées et lissées (lowess, locally weighted regression scatterplot smoothing) (Ellison 2001 ; Quinn & Keough 2002). Ces représentations servent de support visuel au lecteur tandis que tous les effets discutés ont été testés avec les méthodes statistiques présentées ci-dessus.

La signification de la représentation de données sous la forme de boîte à moustache est illustrée sur la Figure 3.

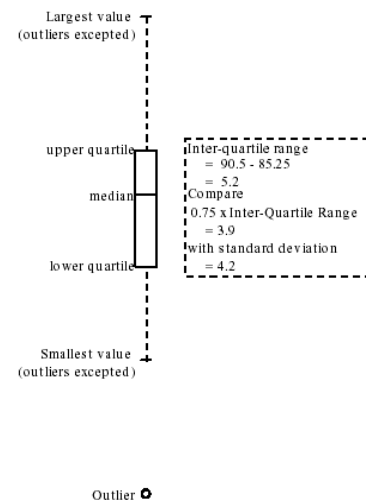


Figure 3 Signification de la représentation des données sous la forme de boîte à moustache.

C II Modéliser des temps

C II 1) Principe

Les données correspondantes à des temps au bout desquels des évènements se produisent sont courantes en écologie (Muenchow 1986) mais présentent des particularités qui les rendent peu amènes à l'analyse par des outils statistiques classiques. Dans le cas de l'étude de la longévité par exemple, les individus suivis doivent être observés régulièrement ou de manière continue afin de déterminer une durée pour chaque individu. Cette durée correspond à la longévité si la mort est observée, à la durée de l'expérience si l'individu est encore vivant à la fin de l'expérience, ou bien, si l'individu est perdu au cours du suivi (tué, échappé...), à une durée maximale d'observation. Dans les deux derniers cas, les observations sont dites **censurées**. Les méthodes d'analyse de survie permettent de prendre en compte les données censurées. Celle-ci tiennent compte du fait que la durée de vie de l'individu censuré est supérieure ou égale à la durée observée. L'utilisation de méthodes d'analyses classiques de type ANOVA supposerait de ne pas prendre en compte ce type de données ce qui conduirait à obtenir des estimateurs biaisés (Fox 2001). Une seconde caractéristique de ce type de mesure est que les données de durée récoltées ont des distributions particulières qui ne peuvent pas être facilement transformées pour satisfaire aux hypothèses des modèles linéaires classiques (Fox 2001).

Les modèles de survie permettent de tenir compte des données censurées et de la distribution particulière des temps mesurés. Ils permettent de comparer la forme des courbes de survie

(proportion d'individus survivant en fonction du temps) entre différents groupes d'individus. Ils peuvent enfin servir à tester l'effet de covariables individuelles sur la probabilité de mortalité.

Le principe des modèles de survie consiste à modéliser la fonction de risque $h(t)$, c'est à dire la fonction décrivant la probabilité que l'évènement se produise (probabilité de mourir ou taux de mortalité par exemple) par unité de temps en fonction du temps sachant que l'évènement ne s'est pas encore produit. En pratique, il est plus aisé d'estimer la fonction de risque intégrée au cours du temps (fonction de risque cumulée).

$$\Lambda(t) = \int_0^t h(s) ds$$

À partir de cette fonction de risque intégrée, il est possible de calculer la fonction de survie $S(t)$ qui représente la manière dont la proportion d'individus survivants varie en fonction du temps :

$$S(t) = \exp[-\Lambda(t)] = \exp\left[-\int_0^t h(s) ds\right]$$

C II 2) Modèles paramétriques

Une première approche consiste à modéliser la fonction de risque par une fonction paramétrique connue. Si le taux de mortalité ne dépend pas de l'âge, la fonction de risque sera simplement constante, $h(t)=\lambda$, et la fonction de survie, une **exponentielle** $S(t)=\exp(-\lambda t)$. La distribution des temps de survie est alors exponentielle.

D'autres modèles paramétriques plus complexes autorisent des fonctions de risque croissantes ou décroissantes avec l'âge (distribution de **Weibull**, $h(t)=\lambda p(\lambda p)^{p-1}$). Le modèle de **Gompertz-Makeham** permet une croissance exponentielle du taux de mortalité avec l'âge, $h(t)=a+b*\exp(ct)$. La fonction de survie associée vaut :

$$S(t) = \exp\left[-\int_0^t (a + b * \exp^{cs}) ds\right] = \exp\left[-a * t + \frac{b}{c}(1 - \exp^{ct})\right]$$

Le modèle de type **valeur extrême** est proche de celui de Gompertz, le risque augmentant de manière exponentielle avec l'âge :

$$h(t) = \frac{1}{b} \exp\left[\frac{t-a}{b}\right]$$

Les modèles **lognormaux** ou **loglogistiques** permettent quant à eux de modéliser une variation unimodale (croissante puis décroissante) du taux de mortalité avec l'âge (Fox 2001).

Le choix d'un type de distribution de survie se fait sur la base d'a priori écologiques et biologiques (Fox 2001). Plusieurs distributions peuvent être ajustées aux données et les qualités de ces ajustements comparées par un calcul de maximum de vraisemblance (Pletcher 1999). L'effet de covariables individuelles sur la survie peut enfin être analysé.

L'approche paramétrique repose sur l'hypothèse que les traitements et covariables vont affecter le temps de survie de manière multiplicative, comme si le temps passait plus ou moins vite en fonction de la valeur de ces covariables. Des périodes de hauts risques de mortalité vont ainsi être décalées dans le temps en fonction des traitements ou des covariables.

La fonction *survreg* de la bibliothèque *survival* ou bien la fonction *psm*⁴ de la bibliothèque *Design* du logiciel R permettent d'effectuer ce type de modélisation.

⁴ parametric survival models

C II 3) Modèles non paramétriques

Les modèles de **risques proportionnels** offrent une approche alternative non paramétrique. Ici, l'effet des covariables est de modifier la probabilité de se trouver dans une période à forte mortalité. Les covariables affectent la fonction de risque de manière multiplicative.

Dans le **modèle de Cox**, une fonction de risque de base est estimée de manière non paramétrique. Sa forme n'est ainsi pas contrainte par le choix d'une distribution que l'approche paramétrique nécessitait, ce qui rend ce type de modèle beaucoup plus souple. Si $h_0(t)$ représente la fonction de risque de base, alors la fonction de risque du groupe d'individus i est modélisée de la manière suivante :

$$h_i(t) = h_0(t) \exp[a_1 Z_{1i} + \dots + a_p Z_{pi}]$$

où les Z représentent les valeurs mesurées des covariables explicatives, et les a les valeurs des coefficients de régression associés à ces variables. Un coefficient de régression positif indique que la variable augmente le risque de mortalité et diminue donc la survie.

L'ajustement d'un modèle de Cox permet de calculer facilement le risque relatif entre deux sujets ou deux groupes d'individus en fonction de leurs covariables, ou encore le risque relatif associé à une covariable. Un risque relatif de 2 pour la covariable Z indique par exemple qu'une augmentation d'une unité de Z multiplie par 2 le taux de mortalité de l'individu.

La fonction *coxph*⁵ de la bibliothèque *survival* permet la mise en œuvre de ce type de modèle. L'option *strata* permet d'ajuster différentes fonctions de risque de base pour différents groupes d'individus ce qui permet d'intégrer la possibilité que les risques ne soient pas proportionnels entre groupes. Mais il n'est alors plus possible d'estimer l'effet lié à l'appartenance à un des groupes (Therneau & Grambsch 2000). L'option *cluster* permet de calculer des variances robustes et ainsi de tenir compte de la non indépendance entre mesures, notamment lorsque des mesures répétées sont effectuées chez un même sujet (Therneau & Grambsch 2000).

Une manière de visualiser l'effet d'une covariable consiste à représenter les résidus de la martingale d'un modèle de Cox dans lequel cette covariable n'est pas incluse en fonction de la valeur mesurée de cette covariable pour chacun des individus. On peut alors explorer la structuration de ces résidus par l'ajustement d'une fonction de type spline (cf. ci-dessous) à ces données. Des résidus négatifs indiquent un taux de mortalité plus faible que le taux de mortalité prédit et donc une survie plus forte (cf. Figure 57 par exemple).

C III L'utilisation des modèles mixtes

C III 1) Effets fixes et aléatoires

Les modèles mixtes permettent de modéliser la moyenne et la variance d'une variable aléatoire en fonction d'effets dits « fixes » et d'effets dits « aléatoires ». Les **effets fixes** correspondent aux effets utilisés dans les modèles linéaires classiques. Ils sont censés être mesurés sans erreur et leurs valeurs peuvent être répliquées d'une étude à l'autre. Dans nos études seront considérés comme fixes toutes les variables manipulées au cours des expériences (traitement de nourrissage par exemple) ainsi que les covariables contrôlées de manière précise (taille des individus, âge, taille des œufs, taille de ponte...).

Les valeurs des **variables aléatoires** sont considérées comme provenant d'un échantillon aléatoire issu d'une population plus large des valeurs possibles de cette variable. Considérer une variable comme aléatoire permet de généraliser les résultats obtenus à l'ensemble des valeurs possibles de cette variable dans la population dont cette variable est issue. Dans l'étude effectuée, nous avons commencé par collecter un ensemble de 11 clones. Du point de vue statistique, cette collecte peut être considérée comme un tirage aléatoire dans l'ensemble réel de la population de clones de cette espèce. Dans cette

⁵ Cox proportional hazard

optique, l'effet « clone » a été traité dans la majeure partie des études statistiques présentées par après comme un effet aléatoire.

C III 2) Décomposition de la variance

Le modèle mixte permet d'estimer une variance associée aux effets aléatoires. À chaque clone est associée une valeur correspondant au résidu que représente le clone par rapport à un clone moyen de la population de clones échantillonnée. La variance estimée associée à l'effet clone correspond à la variance génétique du trait mesuré.

Il est en outre possible de considérer qu'un effet fixe comporte une composante aléatoire. Par exemple, l'effet de la taille des individus sur leur fécondité peut varier d'un clone à l'autre. Cette variation sera testée et estimée en incluant l'effet *taille des individus* dans la partie aléatoire du modèle en plus de son inclusion dans la partie fixe du modèle. Cela permet d'estimer la variance génétique associée, non pas à la fécondité moyenne, mais à l'effet de la taille corporelle sur la fécondité. La même chose peut être faite avec les conditions environnementales, c'est à dire essentiellement, le régime de nourrissage. L'inclusion de l'effet *environnement* dans la partie aléatoire du modèle permet de tester l'existence d'une variabilité génétique associée à l'effet de l'environnement sur la variable analysée et d'estimer la variance associée à cet effet. Ce test apparaît lorsque nous cherchons à mettre en évidence l'existence d'une **variance génétique de la plasticité phénotypique**. La partie aléatoire d'un modèle mixte permet donc de décomposer la variance non expliquée par les effets fixes.

Cette modélisation de la variance se prête enfin à l'emboîtement d'effets ce qui permet une prise en compte rigoureuse de la non indépendance entre mesures. Par exemple, lorsqu'on modélise la taille des œufs, plusieurs mesures de taille d'œufs sont effectuées pour chaque ponte, plusieurs pontes sont produites par chaque femelle suivie, plusieurs femelles peuvent être issues de la même mère et les mères sont elles-mêmes regroupées par clones. Cette hiérarchisation des effets est prise en compte en incluant, dans la partie aléatoire du modèle, un effet *ponte* niché dans un effet *femelle*, niché dans un effet *mère*, niché dans un effet *clone*.

C III 3) Valeurs phénotypiques, valeurs phénotypiques intra-clone et valeurs génétiques

La valeur mesurée d'un trait définit sa **valeur phénotypique**. La variabilité inter-individuelle des mesures provient de la variabilité génétique inter-clone dans la détermination de ce trait et de la variabilité phénotypique non génétique entre individus au sein de chaque clone. L'utilisation d'un modèle mixte permet de quantifier et d'estimer la part de variance associée à chacun de ces deux niveaux de variation et d'extraire ainsi les résidus associés à l'effet clone, qui représentent les **valeurs génétiques** du trait, et les résidus finaux du modèle, qui correspondent à la variance phénotypique intraclone non génétique. Cette décomposition de la variance est utilisée pour estimer les héritabilités mais aussi pour calculer les valeurs phénotypiques des individus une fois les effets génétiques retirés. Ceci correspondrait à la valeur phénotypique du collembole étudié s'il appartenait au clone moyen de la population de clones échantillonnée. Ce sont ces valeurs que nous avons appelées **valeurs phénotypiques intra-clone**. Les corrélations entre traits sont alors généralement calculées à trois niveaux : au niveau phénotypique global, au niveau phénotypique intra-clone et au niveau génétique.

C III 4) Tests

Les effets fixes comme les effets aléatoires sont soumis à des tests de rapport de vraisemblance. Deux modèles emboîtés sont construits puis comparés. La signification de l'effet non présent dans le modèle le plus simple est soumise à un test de χ^2 sur la différence de vraisemblance entre les deux modèles avec comme degré de liberté la différence des nombres de paramètres estimés dans chacun des modèles. Pour un effet clone, un seul paramètre est estimé : la variance associée à cet effet. Ainsi les tests d'héritabilité seront présentés comme des tests de χ^2 à un degré de liberté. Un effet significatif indique qu'il existe une variance génétique sur le trait étudié.

C III 5) Estimation des héritabilités

L'estimation de l'héritabilité peut être accomplie directement en utilisant les paramètres de décomposition de la variance fournis par le modèle. L'héritabilité est calculée comme le rapport de la variance associée à l'effet aléatoire "*clone*" sur la somme de toutes les variances estimées, c'est à dire - dans l'exemple de la mesure de taille des œufs - de celle des clones, de celle des mères, de celle des femelles, de celle des pontes et de la variance résiduelle (qui correspond à la variance moyenne de taille d'œufs au sein des pontes). Le calcul des héritabilités de la plasticité se fait de la même manière en considérant alors la variance associée à l'effet aléatoire "*clone x environnement*". Dans nos analyses, l'héritabilité de la plasticité a été testée en comparant deux modèles emboîtés, l'un contenant l'effet *clone* en effet aléatoire⁶ et l'autre contenant l'effet *environnement* comme effet aléatoire niché dans l'effet *clone*⁷. Si l'héritabilité de la plasticité est significativement différente de zéro (test du rapport de vraisemblance pour comparer les deux modèles), elle est estimée en extrayant la proportion de variance associée à l'effet environnement niché dans l'effet clone.

Dans les travaux présentés par après, nous avons souvent été amenés à mesurer des covariables qui n'ont pu être complètement manipulées - par exemple, la taille des individus. Nous avons choisi en général de corriger les mesures faites sur les traits d'histoire de vie par ces variables lorsque nous avons estimé les héritabilités, ou les corrélations entre traits. Ainsi, l'héritabilité représentera non pas le rapport entre variance génétique d'un trait et variance phénotypique globale mesurée mais entre variance génétique et variance phénotypique des traits corrigés pour les covariables mesurées et retenues par les modèles statistiques. De même lors de l'estimation des corrélations phénotypiques ou génétiques entre variables, les données sont corrigées pour les covariables ajustées.

Pour effectuer ce type d'analyse nous avons utilisé la fonction *lme*⁸ de la bibliothèque *nlme*⁹ de R (Pinheiro & Bates 2000). Un exemple de décomposition de variance de la taille des œufs est présenté dans l'Encadré 1.

Encadré 1 Exemple de décomposition de la variance dans le cas de la mesure de taille des œufs.

- Le tableau "wpont" contient 9757 mesures de surface d'œufs.

surf	Clone	Mère	Indiv	Ponte
0.01445673	AP	AP0	AP0-	AP0-P10
0.01517266	AP	AP0	AP0-	AP0-P10
0.01492463	AP	AP0	AP0-	AP0-P10
0.01610563	AP	AP0	AP0-	AP0-P10
0.01557573	AP	AP0	AP0-	AP0-P10
....				

- Les surfaces sont alors modélisées de la manière suivante:

```

ml<-lme(      surf~1, #partie fixe, juste un intercept
            data=wpont, #jeu de données
            random=list(Clone=~1,Mere=~1, Indiv=~1, Ponte=~1), #partie aléatoire
            method='REML') # méthode d'estimation
  
```

- Structuration des données

Number of Observations: 9757

Number of Groups:

⁶ modélisation de l'effet aléatoire dans R : random=~1 | Clone

⁷ random=~1 | Clone/environnement

⁸ Linear mixed effects

⁹ Non linear mixed effect

Clone	11
Mere %in% Clone	106
Indiv %in% Mere %in% Clone	189
Ponte %in% Indiv %in% Mere %in% Clone	583
○ Décomposition de la variance	
VarCorr(m1) #permet d'extraire les composantes de la variance	
Variance	
Clone =	4.280060e-07
Mere =	2.244490e-10
indiv =	1.600042e-07
Ponte =	8.869175e-07
Residual =	1.032413e-06
○ Calcul de l'héritabilité	
Héritabilité = $4.280060e-07 / (4.280060e-07 + 2.244490e-10 + 1.600042e-07 + 8.869175e-07 + 1.032413e-06) = 0.17$	
$h^2 = 17\%$	

C III 6) Intervalles de confiance

Afin d'estimer un intervalle de confiance pour les héritabilités estimées, nous avons utilisé une méthode de rééchantillonnage de type bootstrap (Manly 1997 ; Dixon 2001). Étant donné que nos données ont été échantillonnées à deux niveaux - échantillonnage de 11 clones dans la population mondiale de clones puis échantillonnage d'individus au sein de chaque clone - nous avons procédé à un rééchantillonnage de nos données à ces deux niveaux. Cela consiste à tirer 11 clones avec remise dans les 11 clones étudiés puis pour chacun des clones tirés, à tirer x mesures parmi les x mesures récoltées sur ce clone. À la fin de la procédure on dispose d'un tableau de données dont la taille peut différer du tableau original étant donné qu'en général le nombre de mesures par clone varie. L'héritabilité du trait est estimée sur ces données puis un nouvel échantillonnage est effectué sur les données originales etc. Cette procédure est généralement effectuée 1000 fois et l'intervalle de confiance à 95% de l'héritabilité est calculé à partir des quantiles à 2.5 et 97.5% de la distribution des 1000 valeurs d'héritabilités calculées. Cette procédure mériterait d'être testée sur un jeu de données construit afin d'étudier les biais qui pourraient exister. Pour information, un exemple de code utilisé est présenté dans le Chapitre 7A II, page 203.

C III 7) Modélisation de la variance

La fonction *lme* fournit un ensemble de facilités permettant d'analyser l'hétéroscédasticité. Dans les modèles présentés, l'hétéroscédasticité est recherchée de manière graphique et testée grâce à des méthodes de maximum de vraisemblance puis prise en compte grâce aux fonctions fournies. Ces fonctions permettent en outre de quantifier l'hétéroscédasticité. On se reportera à l'ouvrage de Pinheiro et Bates (2000) pour une présentation plus détaillée.

C III 8) Modèles mixtes non linéaires

La bibliothèque *nlme* permet d'étendre les capacités du modèle mixte à des modèles non linéaires. La fonction *nlme* a été utilisée par exemple pour l'analyse de mesures répétées de taille corporelle afin de modéliser des trajectoires de croissance non linéaire (Pinheiro & Bates 2000).

C IV Modèles en équations structurées

C IV 1) Corrélations et causalités

La construction de preuves est à la base de l'établissement de faits scientifiques. Plusieurs méthodes sont utilisées et la valeur des preuves qu'elles permettent chacune d'établir varie. Parmi les multiples branches de la biologie, l'écologie semble, par les méthodes qu'elle emploie, l'une des plus rigoureuse puisqu'elle se fonde sur la construction de preuves et non seulement sur la mise en évidence de faits particuliers. L'établissement d'un fait scientifique nouveau repose généralement sur la mise en évidence de relations de cause à effet entre plusieurs variables. La méthode reine pour l'établissement de relations causales entre variables (manipulées et observées) est le protocole d'expérience randomisé popularisé par Fisher (1926). On observe généralement le système expérimental répondre aux quelques variables que l'expérimentateur a manipulées. Il peut néanmoins s'avérer délicat de retracer les relations de causalité liant les variables manipulées aux variables réponses, dès lors que l'unité expérimentale est un organisme ou un groupe d'organismes au sein duquel il n'est pas possible de manipuler indépendamment les variables qui le constituent. Ainsi, une étude des relations causales entre les multiples variables d'un système biologique fondé uniquement sur la méthode d'expérience randomisée se révèle très contrainte (Shipley 2000). Il existe cependant des méthodes statistiques qui permettent d'étudier des relations de causalité entre plusieurs variables qu'il est impossible de manipuler indépendamment. Une de ces méthodes met en œuvre les **modèles en équations structurées** qui s'appliquent notamment aux **analyses de chemin** (path analysis). Encore relativement peu usitées en écologie et biologie évolutives, elles commencent cependant à se répandre dans la littérature (Petersson, Järvi et al. 1996 ; Scheiner & Callahan 1999 ; Crnokrkn & Roff 2000 ; Scheiner, Mitchell et al. 2000 ; Mitchell 2001 ; Svensson, Sinervo et al. 2001).

C IV 2) Principe

Les modèles d'équations structurées sont des modèles de régression multivariée dans lesquels une variable réponse dans une équation peut être incluse dans une autre équation en tant que variable prédictive. Les variables peuvent s'influencer réciproquement, directement ou via d'autres variables intermédiaires. Les relations entre variables sont classiquement représentées sous la forme d'un **graphe**, les relations de dépendance étant matérialisées par des flèches pointant de la variable prédictive vers la variable réponse. Par convention, on appelle **variables exogènes** les variables sur lesquelles n'arrive aucune flèche à simple pointe. Dans notre cas il s'agira par exemple des effets maternels : ceux-ci ne sont par définition pas influencés par les caractéristiques de la croissance ou de la maturation des jeunes. Les **variables endogènes** sont les variables sur lesquelles s'orientent des flèches à pointe unique. Dans notre cas il s'agira de l'âge, la taille et la fécondité à maturité. Les **variables manifestes** sont des variables dont les observations ont des mesures concrètes (par exemple l'âge à maturité a été mesuré directement) alors que les **variables latentes** n'en n'ont pas. Dans les deux cas, elles peuvent être endogènes ou exogènes. Les **variables d'erreur** représentent les résidus des variables endogènes manifestes. Ce sont des variables exogènes (notées « e »). Les **variables de perturbation** (disturbance) sont les résidus des variables endogènes latentes (notées « d »).

La mise en œuvre de ces techniques se fait en plusieurs étapes (Bollen 1989 ; Diamantopoulos & Siguaw 2000 ; Shipley 2000 ; Pugesek, Tomer et al. 2003) :

- Dans un premier temps, il s'agit de concevoir un modèle d'interactions entre variables en se basant sur des hypothèses biologiques préalables (théoriques ou empiriques) issues par exemple de la littérature.
- Ces hypothèses sont ensuite traduites dans l'élaboration d'un diagramme de chemins d'interactions entre variables.

- À partir de ce diagramme, le modèle est spécifié en détaillant le nombre et la nature des paramètres à estimer. Cette mise en équation a été effectuée au sein du logiciel LISREL consacré dans ce domaine (Diamantopoulos & Siguaw 2000 ; Jöreskog & Sörbom 2003).
- Les paramètres sont ensuite estimés en utilisant la matrice de covariance entre les variables analysées.
- L'adéquation du modèle aux données est étudiée à partir de divers indicateurs (χ^2 , Root Mean Square Error of Approximation (RMSEA), Expected Cross Validation Index, Akaike's Information Criterion, ...).
- Un examen des caractéristiques du modèle permet ensuite de savoir si des modifications doivent être faites sur le modèle (ajout de liens entre variables puis simplification éventuelle du modèle). Ces modifications doivent reposer sur des hypothèses théoriques ou empiriques préalablement énoncées. Des modèles emboîtés peuvent être comparés grâce à des tests de χ^2 (retour au premier point).

D Plan

Bien qu'étudié dans de nombreux laboratoires, le collembole *Folsomia candida* n'a fait l'objet que d'un petit nombre d'études relatives à l'évolution de ses traits d'histoire de vie. Une grande part de notre travail a consisté à mettre en place et à optimiser ce système expérimental nouveau afin de pouvoir effectuer des mesures précises en grand nombre sur tous les stades de son cycle de vie. La nouveauté de ce système expérimental dans cette branche de la biologie et la nouveauté des méthodes techniques utilisées nous a conduit à consacrer un chapitre de cette thèse à leur présentation (Chapitre 2).

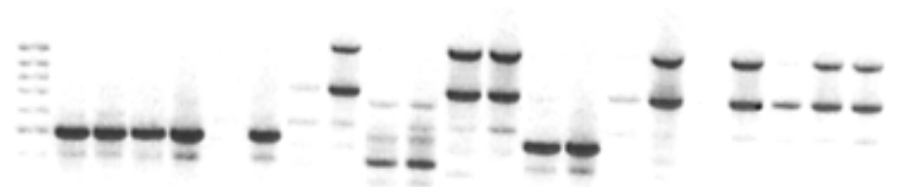
Nous suivrons ensuite différentes étapes du cycle de vie en commençant (Chapitre 3) par décrire et étudier les phases précoces de la vie de *Folsomia* : développement des œufs, croissance et maturation.

Au Chapitre 4, nous nous intéresserons à la manière dont cette espèce alloue les ressources dont elle dispose dans la reproduction et plus précisément comment elle partage ces ressources pour la production d'œufs plus ou moins gros et plus ou moins nombreux. Nous porterons dans cette partie une attention particulière à la flexibilité phénotypique de cet investissement dans la reproduction et au partage de cet investissement suite à un changement brutal de l'environnement portant sur la densité de population et la disponibilité des ressources alimentaires.

Au Chapitre 5, nous étudierons les différentes stratégies de reproduction et de survie que l'on peut observer chez cette espèce en fonction des conditions alimentaires. Cette partie permettra de porter une vue globale sur le cycle de vie de cette espèce puisqu'on analysera les patrons de reproduction et de survie sur l'entièreté de la durée de vie des individus étudiés.

Pour finir (Chapitre 6) nous tâcherons de dégager en conclusion les éléments principaux émanant de l'étude des stratégies de vie de cette espèce et tracerons certaines des voies de recherche vers lesquelles cette étude peut nous emmener.

Chapitre 2 FOLSOMIA CANDIDA, UN ORGANISME MODELE EN ECOLOGIE EVOLUTIVE



« The members of this Order [Collembola] are lowly organized for their class. They are wingless, dull-colored, minute insects with ugly, almost misshapen head and bodies. Their sexes do not differ; but they offer one interesting fact, by showing that the males pay sedulous court to the females even low down in the animal scale. »

Charles Darwin, The descent of Man (1871), Vol. I, p.348

A Les collemboles

Les collemboles forment à l'heure actuelle une classe au sein des hexapodes à côté des Diploures, des Protoures et des Insectes. La classe des collemboles est elle-même divisée en trois ordres, les *Arthropleona* (composé des deux superfamilles *Poduroidae* et *Entomobryoidae*), les *Neelipleona* et les *Symphyleona* (Hopkin 1997). Plus de 6000 espèces ont été décrites. La diversité totale de ce groupe est sans doute de plusieurs dizaines de milliers d'espèces. C'est un groupe très ancien puisque que l'on en retrouve des traces fossiles vieilles de plusieurs centaines de millions d'années : le premier fossile d'hexapode, *Rhyniella precursor*, est sans doute un collembole et date de 400 millions d'années.

A I Principales synapomorphies

Les Collemboles se distinguent de leurs groupes frères par la présence de plusieurs synapomorphies (Figure 4). La première est la présence à l'extrémité de leur abdomen d'un organe de saut, la **furca** ou furcula. Celle-ci est formée par la fusion d'une paire d'appendices du 4^{ème} segment abdominal. Elle est composée d'une base fusionnée, le **manubrium**, de deux prolongements, les **dens**, terminés par une extrémité crochue, le **mucro** (cf. Figure 20, page 41). En position normale, la furca est repliée sous l'abdomen de l'individu et maintenue dans cette position grâce au **réтинacle** ou tenaculum. Cet organe est lui aussi formé par la fusion d'une paire d'appendice du 3^{ème} segment abdominal. Le réтинacle joue un rôle de bouton pression maintenant la furca sous l'abdomen et permettant au collembole de la libérer brusquement en cas de danger par exemple. Cette libération permet de propulser violemment le collembole en avant sur plusieurs centimètres. Si le saut est généralement utilisé pour échapper aux prédateurs, il peut chez certaines espèces être un moyen de locomotion propre. On peut noter que certains groupes de collemboles ont perdu secondairement la capacité de sauter via une régression de la furca (chez les Poduromorphes par exemple). Enfin les collemboles se caractérisent par une troisième paire d'appendices abdominaux fusionnés provenant du 1^{er} segment abdominal et formant le **tube ventral** (Figure 4). Cet organe joue un rôle essentiel dans l'équilibre osmotique des collemboles. Par son extrémité gluante il sert aussi d'organe de maintien collant permettant aux collemboles de se maintenir sur des surfaces lisses et glissantes. L'origine du terme collembole, introduit par Lubbock en 1873, est d'ailleurs dérivé de cet organe puisque l'étymologie du terme provient du grec *colle* (colle) en *embolon* (piston).

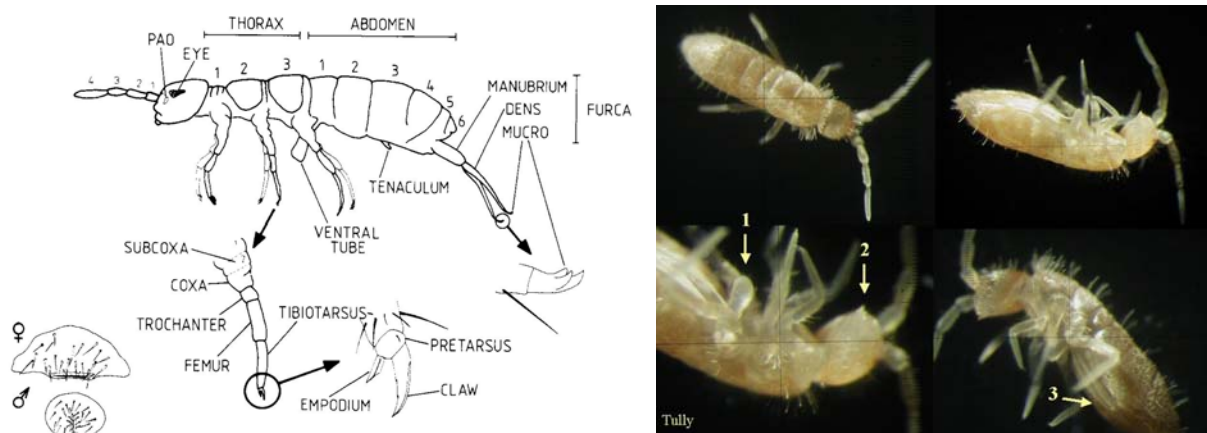


Figure 4 Principales synapomorphies des collemboles. À gauche, anatomie d'un collembole Isotomide, *Isotoma viridis* (Hopkin 1997). À droite, diverses vues de *Sinella curviseta* montrant le tube ventral (1), la bouche avec des pièces buccales internes (2) et la furca repliée sous l'abdomen au repos (3).

A II Éléments de physiologie et d'éthologie

Les collemboles forment un des groupes d'arthropodes les plus abondants et largement répandus dans les écosystèmes terrestres. On les trouve sur tous les continents, des plus basses aux plus hautes altitudes et latitudes. La plupart des espèces vivent dans le sol où ils peuvent atteindre des densités très

élevées (plusieurs dizaines de milliers d'individus par m²). Ils sont de petite taille (quelques mm au plus). Généralement détritivores, ils se nourrissent principalement dans la litière et dans le sol de matière organique en décomposition et d'hyphes de champignons.

Les collemboles sont des hexapodes amétaboles, caractérisés par un développement direct, une reproduction itéropare. Les juvéniles sont généralement assez semblables aux adultes.

Les collemboles sont rarement distribués de manière homogène dans leur environnement, aussi bien naturel (Usher 1969) qu'en laboratoire (Usher & Hider 1975 ; Verhoef & Nagelkerke 1977 ; Verhoef, Nagelkerke et al. 1977), et ont tendance à former des agrégats pour plusieurs raisons.

Les collemboles sont très sensibles à une faible hygrométrie de l'air. Cette sensibilité particulièrement élevée à l'humidité relative est due au fait que la plupart des espèces ne possèdent pas de système respiratoire interne (trachée) et respirent à travers la cuticule et leur tube ventral (Nutman 1941). La cuticule est donc très perméable et les collemboles perdent énormément d'eau par transpiration (Vannier & Verdier 1981). Ceci est encore plus marqué lors de la mue puisque la nouvelle cuticule devient alors particulièrement perméable. En conséquence, ils ont tendance à être attirés collectivement et à s'agréger dans des microsites humides de leur habitat (Usher & Hider 1975 ; Verhoef & Nagelkerke 1977), particulièrement lors des mues (Joosse & Verhoef 1974).

De forts degrés d'agrégation peuvent être observés même dans un environnement homogène. Ainsi à ces facteurs environnementaux s'ajoutent des effets intrinsèques à la population. Usher et Hider (1975) remarquent que l'agrégation de *Folsomia candida* ne se produit que si un nombre suffisant d'individus est présent et s'accroît avec la densité. Les auteurs évoquent la possibilité d'existence de stimuli olfactif pour expliquer cette attraction mutuelle. La présence de phéromones d'agrégation volatiles mais pouvant imprégner le milieu de culture est en effet démontrée chez plusieurs espèces de collemboles (Verhoef, Nagelkerke et al. 1977 ; Leonard & Bradbury 1984). Verhoef et Nagelkerke (1977) ont étudié en détail le fonctionnement de ces phéromones chez *Orchesella cincta*, *O. villosa* et *Tomocerus minor*. Les antennes jouent un rôle essentiel dans la perception de ces phéromones, leur amputation entraînant une absence d'agrégation chez *Orchesella cincta*. Les phéromones sont relativement spécifiques à l'espèce, les individus réagissant plus, voire uniquement, au signal de leur propre espèce. L'activité motrice des collemboles est affectée par la présence d'odeurs de congénères sur le milieu : les collemboles sont moins actifs lorsqu'ils se trouvent sur un milieu imprégné d'odeurs. La phéromone est alors appelée un « arrestant ». Cette simple réponse peut suffire à expliquer la formation d'agrégats.

La signification évolutive de ces phéromones d'agrégation est multiple. Joosse et Verhoef (Joosse & Verhoef 1974) ont montré par exemple que les individus s'agrégeant d'*Orchesella cincta* sont souvent à un même stade par rapport à leur cycle de reproduction et de mue : lors de la mue, les individus sont plus agrégés, leur activité locomotrice est faible et leur transpiration plus élevée. Les auteurs interprètent ce phénomène comme une conséquence d'une plus forte sensibilité à la déshydratation qui conduit les individus à se rassembler dans des microsites plus humides de leur environnement. Mais on peut aussi envisager que la formation d'agrégats permette aux collemboles de générer des microsites dans un environnement homogène en augmentant l'humidité relative autour de l'agrégat du fait même de la transpiration des individus. D'autre part ces phéromones d'agrégation pourraient jouer un rôle dans la rencontre des partenaires sexuels et la synchronisation de leurs cycles sexuels (Verhoef, Nagelkerke et al. 1977).

B Cycle de vie et biologie de *Folsomia candida*

B I Présentation

Folsomia candida est un collembole *Arthropléone*, de la superfamille des *Entomobryoidae*, et de la famille des *Isotomidae* qui comprend plus de 1000 espèces. Une des caractéristiques des *Isotomidae* est que les segments abdominaux sont de longueur identique (Figure 4) alors qu'en général le 4^{ème} segment est plus grand.

Folsomia candida est euédaphique. Bien que largement répandu et présent notamment en Eurasie et en Amérique (Figure 5), il est assez difficile à observer dans la nature (Vannier & Kilbertus 1984). Très sensible à la dessiccation (Bayley, Petersen et al. 2001 ; Sjørnsen, Bayley et al. 2001), il affectionne les bois morts en phase de décomposition avancée en contact avec un sol humide (Vannier & Kilbertus 1984).

C'est une espèce relativement petite (<2mm). Les individus peuvent donc être maintenus en élevage dans des boîtes de petite dimension. Aveugles et blancs, les individus sont faciles à repérer et à compter sans avoir besoin de perturber leur milieu (Usher & Stoneman 1977).

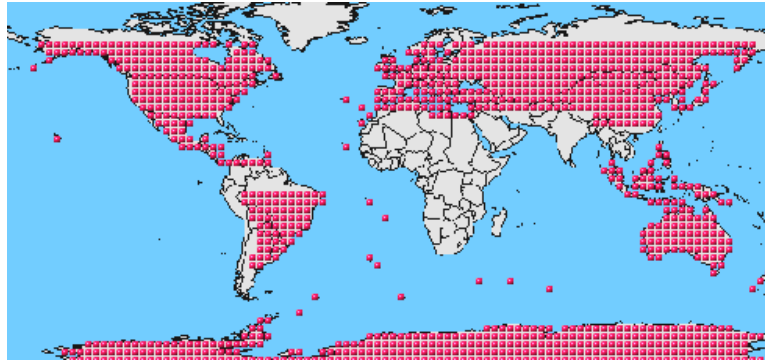


Figure 5 Carte de répartition de *Folsomia candida* (Janssens 2004)

B II Reproduction

B II 1) Une reproduction parthénogénétique

Folsomia candida est une espèce à reproduction parthénogénétique (parthénogenèse thélytoque continue (Palevody 1974). Ce mode de reproduction est-il strict ou bien existe-t-il des conditions ou des périodes au cours desquelles des mâles apparaissent et une reproduction sexuée se met en place ? La plupart des auteurs présentent l'espèce comme étant inconditionnellement parthénogénétique (Usher & Stoneman 1977). Goto (1960) fait pourtant mention de mâles ; une reproduction sexuée aurait été observée par Milne (1960) dans ses populations. Hutson (1978) quant à lui contraste une population de laboratoire de *Folsomia candida* parthénogénétiques avec une population provenant de milieu naturel qui n'aurait pu se reproduire en absence de mâles (bien que l'auteur suppose leur existence sans les identifier formellement). D'après Guy Vannier (communication personnelle) des mâles peuvent exister dans certaines conditions dans la nature. Cependant en condition de laboratoire, nous n'avons jamais observé d'individus mâles et toutes les femelles isolées depuis leur naissance qui ont atteint la maturité ont produit des pontes dont au moins certains œufs se sont développés. D'autre part, lors d'une étude des échantillons de *Folsomia candida* récoltés par Louis Deharveng, tous les individus qui avaient été caractérisés comme étant des mâles se sont avérés après un examen attentif appartenir à d'autres espèces proches. Ainsi, si la reproduction sexuée chez cette espèce est possible, nous n'avons pu réunir de preuves convaincantes de son existence.

Plusieurs autres espèces de collemboles présentent une reproduction parthénogénétique. Il a été montré dans d'autres groupes que la parthénogenèse peut être induite par la présence de bactérie intracellulaire du genre *Wolbachia* (Huigens & Stouthamer 2003). Or *Folsomia candida* est effectivement infecté par *Wolbachia*, la souche découverte (*W. pipientis*) constituant une nouvelle lignée de *Wolbachia*, lignée qui forme désormais le groupe E (Vandekerckhove, 1998). *Wolbachia* joue-t-elle un rôle dans le mode de reproduction parthénogénétique de *Folsomia candida* ? S'il est encore trop tôt pour répondre à cette question, un élément le laisse à penser : nous verrons par la suite qu'un certain nombre d'œufs pondus ne se développent pas (œufs stériles) ; le traitement des *Folsomia* aux antibiotiques, éliminant ou au moins réduisant la charge en *Wolbachia*, provoque une augmentation de la proportion d'œufs stériles (Vandekerckhove, Watteyne et al.). Si la présence de *Wolbachia* est nécessaire au développement d'un ovule non fécondé (en permettant par exemple - par un mécanisme moléculaire à

déterminer - à l'ovule de réaliser une duplication de son ADN sans faire de division cellulaire, et ainsi, de passer d'un état haploïde à un état diploïde ce qui permet ensuite le développement du zygote), on pourrait imaginer que la stérilité de certains œufs serait due à une perte, par hasard, de leurs *Wolbachia* au cours des divisions cellulaires précédentes ; ces œufs seraient alors bloqués dans leur développement. La diminution de la charge en *Wolbachia*, suite à un traitement aux antibiotiques, entraînerait une augmentation de la proportion d'œufs non infectés et expliquerait alors pourquoi la proportion d'œufs stériles augmente.

B II 2) Fécondité

Folsomia candida pond des œufs par paquets de 1 à 180 environ. En bonnes conditions les collemboles peuvent pondre une ponte par semaine environ. Les œufs d'une ponte sont en général pondus en quelques heures mais la ponte est parfois effectuée en plusieurs fois, plusieurs dizaines d'heures séparant deux événements. Lors de la ponte, l'œuf est assez petit (Figure 7 ; $<100\mu\text{m}$) puis gonfle en quelques dizaines de minutes en absorbant de l'humidité (Britt 1951 ; Marshall & Kevan 1962). Ils font en moyenne $140\mu\text{m}$ (0.14mm) de diamètre quelques heures après la ponte si bien que le volume du tas d'œuf d'une ponte peut être presque aussi grand que la femelle qui vient de pondre ! D'un aspect lisse et blanc laiteux lors de la ponte, ils se couvrent en quelques heures de petites gouttelettes collantes (Figure 6, gauche) contenant des gaz d'après Marshall et Kevan (1962), en grossissant légèrement. Puis, sans doute à la suite d'oxydations liées au contact avec l'air, leur couleur passe du blanc laiteux (Figure 6, gauche) à un blanc cassé puis beige clair (Figure 6, centre) et enfin après une douzaine d'heures à un jaune-beige plus foncé. L'œuf reste sous forme sphérique sans changer notablement de volume pendant environ trois jours à 24°C (7 jours à 16°C) avant que le chorion ne se rompe (Figure 6, droite et Figure 10). L'œuf augmente alors nettement de volume et prend une forme ovoïde caractéristique. Après la rupture du chorion l'œuf ne change pas de volume.

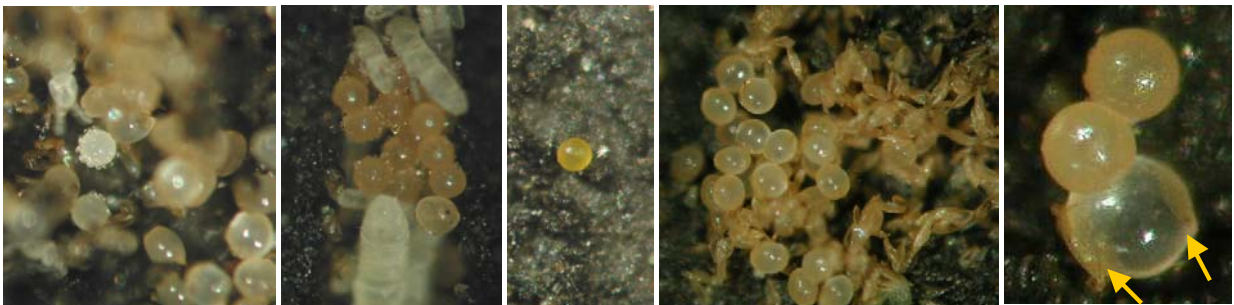


Figure 6 Différents stades de développement des œufs. De gauche à droite : œuf blanc pondu depuis moins de deux heures, amas d'œufs provenant d'une ponte de moins de 24h et plus de 10h, vieil œuf stérile de plus d'une semaine, pontes avec œufs développés proches de l'éclosion et restes de chorions d'œufs éclos, trois œufs dont le chorion de l'un d'entre œufs vient de se rompre (flèches).

B II 3) Cycle de reproduction

À 24°C il faut environ 28 jours pour compléter un cycle de vie. Ainsi en conditions constantes, cette espèce peut produire 12 générations par an (Marshall & Kevan 1962).

D'après Palevody (Palevody 1974), les femelles effectuent deux mues entre deux pontes consécutives. La première mue est dite « stérile » et la deuxième, précédant la ponte, est dite « fertile ». Les jeunes commencent à se reproduire après la 5^{ème} (ou plus rarement 6^{ème}) mue puis effectuent une ponte toutes les deux mues jusqu'à leur mort (Snider 1973 ; Palevody 1974 ; Grimnes & Snider 1981).

B II 3 a) Ponte

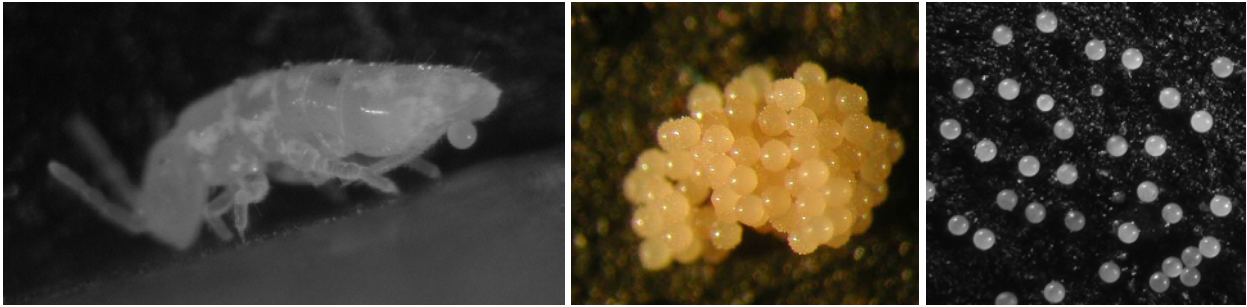


Figure 7 Déroulement de la ponte chez *Folsomia candida*. À gauche, femelle surprise en train de pondre. Au moment de la ponte, l'œuf est petit mais gonfle en quelques minutes. Au centre, 5^{ème} ponte de la femelle PB9+ le 19/09/2002. Cette ponte est constituée de 121 œufs, la femelle étant âgée de 53 jours et mesurant 2,09mm. Tous les œufs de cette ponte se développeront. À droite, détail de la 3^{ème} ponte de la femelle HA1+, âgée de 40 jours et mesurant 1.77mm. Elle pondit 73 œufs dont 75% se développèrent. Remarquer la grande variabilité de la taille des œufs au sein de cette ponte.

Lorsque plusieurs femelles sont élevées en même temps, il arrive fréquemment qu'elles pondent sur un même site. Il n'est pas rare de trouver des amas de plusieurs centaines d'œufs ayant des stades de développement différents dans les boîtes d'élevage (Marshall & Kevan 1962). Si l'on veut mesurer des tailles de pontes, il est nécessaire d'isoler les femelles.

B II 3 b) Mues

Au cours de la mue, l'intestin moyen est renouvelé. Avant la mue l'épithélium intestinal commence à dégénérer et remplit la lumière intestinale, empêchant toute activité alimentaire (Thibaud 1968). Les collemboles cessent ainsi de se nourrir 1 à 2 jours avant la mue proprement dite lors d'une période dite de jeûne exuvial. Lors de cette période de jeûne, les collemboles sont particulièrement faciles à distinguer puisque leur intestin ne contient aucun contenu stomacal et le corps du collemboule est alors parfaitement blanc. Suite à l'alternance de phases d'alimentation, de jeûne et de mue, en moyenne un collemboule ne peut se nourrir que pendant à peu près la moitié de sa durée de vie adulte, (fait déjà observé chez d'autres espèces des genres *Orchesella* et *Tomocerus* (Anderson & Healey 1972)).

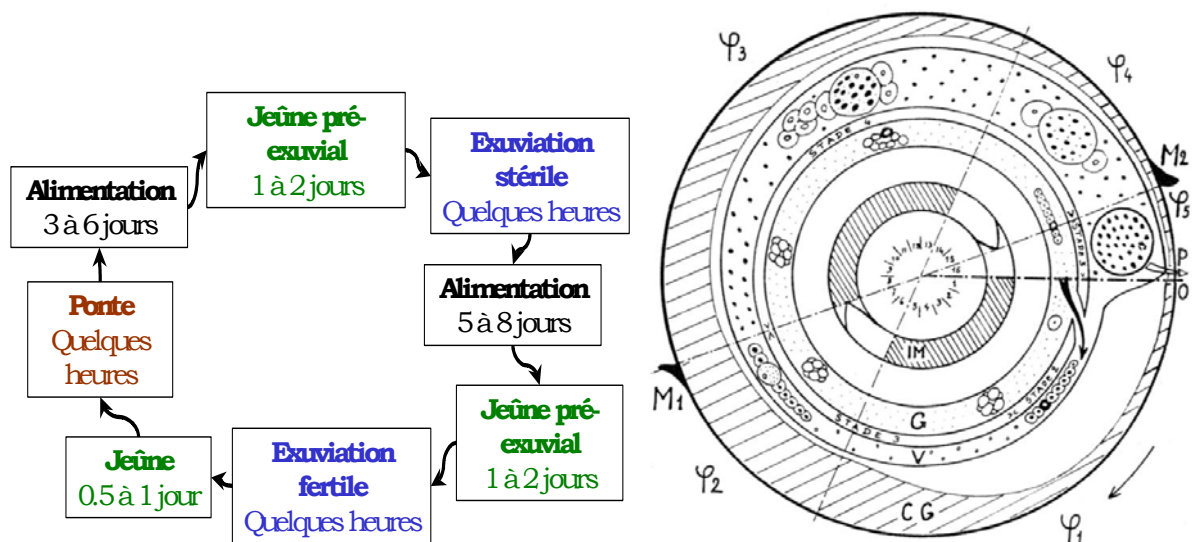


Figure 8 Cycle de reproduction de *Folsomia candida*. À gauche: cycle de vie simplifié représentant les quatre phases d'alimentation, jeûne, exuviation et ponte. À droite, représentation détaillée du cycle reproducteur (d'après Palevody 1974). Au centre, durées moyennes en jours ; IM: Intestin moyen ; G : germarium ; V : vitellarium ; CG : corps gras ; O : origine du cycle ; φ_1 : phase d'alimentation et de constitution des réserves ; φ_2 : phase de jeûne pré-exuvial suivie de la mue stérile (M1) ; φ_3 : seconde phase d'alimentation, vitellogenèse et réduction du corps gras ; φ_4 : phase de jeûne préparatoire à la mue fertile (M2) ; φ_5 : courte phase de jeûne précédant l'oviposition (P).

La mue est un moment délicat dans la vie du collembole. Si en général ce moment se passe sans encombre, l'individu se débarrassant de son ancienne cuticule en quelques dizaines de minutes, nous avons observé à plusieurs reprises des collemboles s'empêtrer dans leur mue. Un individu peut alors rester coincé dans l'exuvie ou la traîner avec lui pendant plusieurs heures voire plusieurs jours ce qui se solde parfois par la mort du collembole. Il est probable qu'il s'agit d'un stade crucial en terme de survie, et ceci d'autant plus qu'en milieu naturel le collembole est plus vulnérable aux prédateurs lors de cette phase (Figure 9).

Dans les élevages, les mues persistent plusieurs jours avant d'être dégradées par les bactéries et il est possible de les détecter et ainsi de repérer à quel moment l'individu suivi a mué ou combien d'individus ont mué. De plus, l'état de la mue donne une indication sur la date plus ou moins récente de l'exuviation (Figure 9).



Figure 9 La mue chez *Folsomia candida*. À gauche, deux *Folsomia* en mue. Les individus sont en train de se débarrasser de leur exuvie et ne peuvent à ce moment ni se mouvoir, ni se tenir debout, ce qui les rend particulièrement vulnérables. À droite, trois mues abandonnées dans les boîtes d'élevages dans un état de dégradation de plus en plus avancé.

B II 3 c) Développement embryonnaire

Les œufs de *Folsomia candida* se développent dans une atmosphère humide. Comme ceux d'autres espèces de collemboles, ils peuvent aussi se développer et éclore lorsqu'ils sont immergés sous l'eau ou bien à la surface de l'eau. Les jeunes éclos peuvent survivre plusieurs semaines sur l'eau s'ils sont nourris (Marshall & Kevan 1962). Cette propriété permet sans doute à cette espèce de survivre et même de continuer à se développer lors de périodes d'inondation du sol ou bien lors d'épisodes de dispersion si les œufs sont emportés par un courant d'eau quelconque.

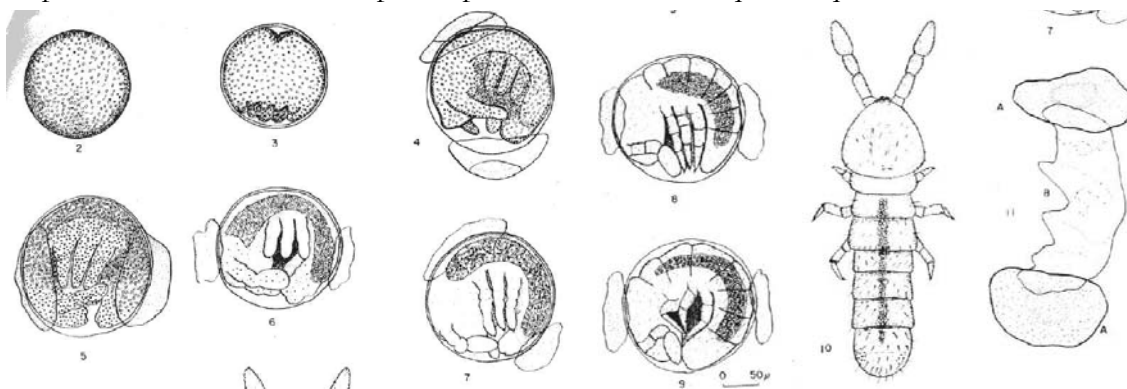


Figure 10 Différents stades de développement embryonnaire de *Folsomia candida*. Développement journalier de *Folsomia candida* à 24°C (œufs immergés). (2) L'œuf à un jour. (4) Au troisième jour, le chorion se rompt. (10) Jeune juste après la naissance. (11) Restes des œufs après l'éclosion. A, chorion. B, cuticule. D'après Marshall et Kevan (1962) auquel on se reportera pour une légende complète.

B III Nourriture

Les préférences alimentaires et l'influence de la qualité de la nourriture consommée par *Folsomia candida* sur les différents paramètres de son cycle de vie ont fait l'objet de nombreux travaux.

B III 1) Régime alimentaire

Les collemboles sont des détritivores peu spécialisés. Le contenu stomacal de différentes espèces vivant dans un même milieu est souvent plus similaire que celui d'individus d'une même espèce provenant de milieux différents (bien qu'une analyse plus détaillée puisse mettre en évidence des différences entre espèces (Anderson & Healey 1972)).

Folsomia candida a un régime alimentaire varié. Il se nourrit d'hyphes de champignons de la litière (*Mucor*, *Cladosporium*, *Epicoecum*, *Phoma*, *Penicillium*, *Trichoderma*) (Walsh & Bolger 1990 ; Klironomos, Widden et al. 1992 ; Draheim & Larink 1995), de débris végétaux, de bactéries (Vannier & Verdier 1981), mais aussi de micro-algues (de type *Pleurococcus*), de pollen, de spores de fougères ou de champignons (Stam, Van De Leemkule et al. 1996), de levures. *Folsomia* se montre aussi occasionnellement carnivore (prédation sur des Nématodes montrée par Lee et Widden (1996)). Nous avons pu en outre observer à une occasion en élevage des comportements de cannibalisme sur des individus blessés. *Folsomia* est capable de manifester des préférences alimentaires pour, par exemple, les hyphes de saprophytes primaires plutôt que secondaire (Klironomos, Widden et al. 1992). Les collemboles préfèrent des hyphes jeunes et riches en azote (Leonard 1984). La nature du substrat sur lequel les hyphes ont été cultivés va influencer sur les préférences alimentaires des collemboles entre les différentes espèces de champignons (Leonard 1984). Généralement, les individus sélectionnent la nourriture la plus riche, leur permettant d'augmenter leur fécondité.

La levure de bière, très appréciée par cette espèce, est souvent utilisée comme source de nourriture dans les cultures de laboratoire.

B III 2) Alimentation et reproduction

Les études considérant la manière dont l'effort reproducteur varie au cours de la vie d'un individu sont assez rares. La production d'œufs au cours de la vie des individus a été mesurée par Vanamelsvoort et Usher (1989) en suivant des cohortes de huit individus nourris avec de la levure de bière pure ou mélangée à un broyat de feuilles mortes de *Sanguisorba officinalis* ou de *Quercus robur*, les feuilles de chêne ayant une plus faible valeur nutritive. Les individus nourris avec de la levure de bière pondent en moyenne 1224 œufs au cours de leur vie (mesuré sur 205 jours) et leur pic de fécondité est atteint très rapidement (24 jours) alors que celui-ci est plus tardif pour les individus nourris avec *Sanguisorba* (78 jours) et plus encore chez ceux nourris avec *Quercus* (104 jours). Avec un régime à faible valeur nutritive (*Quercus*), le nombre moyen d'œufs pondus au cours de la vie est globalement similaire à celui des individus nourris avec de la levure (910 œufs), mais avec un régime intermédiaire (*Sanguisorba*), le nombre total d'œufs pondus est plus élevé (1963 œufs). Ainsi, lorsque la qualité nutritive de la nourriture est réduite, la baisse de fécondité est compensée par une augmentation de la survie et de la période au cours de laquelle les individus se reproduisent.

C Méthodes d'élevage

C I Boîtes d'élevage

C I 1 a) Méthodes standard

Les élevages de collemboles sont classiquement maintenus dans des boîtes dont le fond est couvert d'un mélange de plâtre de Paris et de charbon de bois. Le plâtre humidifié permet ensuite de maintenir l'atmosphère de la boîte à une hygrométrie proche de 100% (Marshall & Kevan 1962). Le charbon assainit le milieu (Rohde 1956), et permet, grâce à la couleur sombre qu'il donne au milieu, de repérer facilement les collemboles, leurs pontes et leurs mues, tous étant de couleur claire. Enfin, la couleur plus ou moins sombre du milieu permet de contrôler le degré d'humidité du substrat et d'ajouter de l'eau en cas de besoin (le substrat s'éclaircit en séchant) (Hubber 1958).

Les populations de réserve peuvent être maintenues dans des boîtes plastiques d'environ 10 cm de diamètre tandis que les populations des expériences sont maintenues dans des boîtes d'environ 5 cm

de diamètre. Il est classiquement recommandé de préparer un fond de 1 cm de mélange de plâtre (Usher & Stoneman 1977).

Rohde (1956) propose de plonger un ensemble de cylindres dans une boîte de ~10 cm de côté au fond de laquelle un mélange de 9/1 de plâtre de Paris et de charbon actif a été délayé avec de l'eau. Ce système permet de manipuler facilement les boîtes d'élevage individuelles et de maintenir constante l'humidité des boîtes en imbibant la matrice de plâtre. Mais les boîtes sont petites et ne peuvent être manipulées isolément, ce qui complique les observations sous microscope et empêche la randomisation de leur place dans l'étuve.

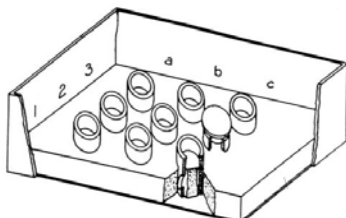


Figure 11 Boîtes d'élevage de Rohde (1956).

Usher et Stoneman (1977) conseillent de mélanger 270 cm³ de plâtre de Paris avec 30 cm³ de charbon actif en poudre puis d'ajouter 500 cm³ d'eau. Les boîtes remplies avec ce mélange doivent être tapées sur un support solide avant que le plâtre ne durcisse afin que les bulles prisonnières s'échappent. Les auteurs conseillent de laisser sécher les boîtes une semaine environ avant de les imbiber à nouveau et d'y introduire des collemboles. Ils remarquent sans pouvoir l'expliquer une surmortalité lorsque les collemboles sont introduits trop tôt. Nous avons pu observer ce type de phénomène, qui semble aussi dépendre du type de plâtre utilisé. Les auteurs conseillent de réhumidifier le milieu environ une fois par semaine.

Hutson (1978) met en garde contre les variations de pH pouvant résulter de l'utilisation de différentes quantités ou qualités de charbon actif dans la préparation des milieux de culture.

C I 1 b) Méthode mise au point

Nous avons modifié et amélioré les méthodes d'élevage :

○ Moulage du plâtre

Dans chaque boîte, introduire 38 g d'eau et 600 µL d'encre de chine. Agiter légèrement pour mélanger encre et eau. Puis introduire 65 g de plâtre de Paris en plusieurs fois mais assez rapidement (attendre que la partie introduite soit humidifiée avant d'en rajouter). Remuer légèrement à l'aide d'une spatule pour rompre d'éventuels grumeaux (attention à ne pas faire de bulles). Taper la boîte sur le support pour faire remonter à la surface les bulles du plâtre et pour aplanir la surface. Laisser durcir puis faire sécher le mélange, éventuellement à l'étuve, pendant une nuit.

○ Traitement de la surface

Ponçage

Une fois le plâtre sec, percer le fond de la boîte d'un trou d'environ 5mm de diamètre pour permettre d'humidifier le plâtre en faisant tremper les boîtes dans de l'eau.

La surface du plâtre est ensuite poncée à l'aide d'une brosse de nylon montée sur une microperceuse, le but étant de parfaire l'aplanissement de la surface, de découvrir et d'arrondir les bulles présentes à la surface, d'éliminer les résidus de plâtre sur les bordures de la boîte ce qui permet d'avoir un angle quasi droit entre le plâtre et les bords de la boîte (utile pour les photos et l'analyse d'image où tous les collemboles doivent être sur le même plan).

Argile

Les collemboles ayant tendance à pondre dans les anfractuosités présentes sur le substrat, il est indispensable d'obstruer les moindres bulles ou trous dans le plâtre pour pouvoir mesurer et compter facilement les œufs pondus. Pour cela nous avons réalisé un mélange liquide d'argile, d'encre de Chine et d'eau avec lequel nous peignons la surface des boîtes sèches. La fine couche d'argile va alors combler l'ensemble des trous restants dans le plâtre et assombrir fortement la couleur du milieu, ce qui a l'avantage d'augmenter le contraste entre les collemboles et leurs œufs sur les photos prises par la suite.

Mélange: faire sécher des morceaux d'argile du commerce de la taille d'une noix puis une fois bien secs les réduire en une poudre fine à l'aide d'un pilon et d'un tamis. Mélanger ensuite cette poudre à de l'eau noircie par de l'encre de Chine, avec un agitateur magnétique, dans les proportions suivantes : eau : 115 g ; encre : 5 mL ; argile en poudre : 50 g.

○ Humidification

Une fois les étapes précédentes achevées, les boîtes sont humidifiées en trempant leur base dans 1 à 2 cm d'eau. En quelques minutes, l'eau pénètre par le trou et humidifie l'ensemble de la boîte, le plâtre prenant alors une couleur plus sombre. Il faut éviter d'humidifier le plâtre en apportant de l'eau à la surface car l'air contenu dans le plâtre sec sort alors par la surface en créant des bulles qui déstructurent la surface lisse et continue d'argile.

La quantité de plâtre introduite permet d'obtenir des boîtes (de 5,1 cm de diamètre) avec une épaisseur de 3 cm de plâtre, épaisseur plus élevée que ce qui est usuellement décrit dans la littérature (Figure 12). Ceci permet au plâtre de stocker une assez grande quantité d'eau lorsqu'il est humide et de garder cette humidité longtemps. Il est ainsi possible de garder des élevages plusieurs mois sans réhumidifier le plâtre (en gardant le bouchon fermé ;-).



Figure 12 Boîtes d'élevage de type "Tully". À gauche, présentation d'une boîte d'élevage standard : a, volume dans lequel vivent les collemboles; b, épaisse couche de plâtre noircie à l'encre de chine; c, trou au fond de la boîte permettant sa réhumidification. Au centre, aperçu d'une boîte vue de dessus, où prospère une population de collemboles. À droite, disposition des boîtes dans un incubateur (les ventilateurs permettent un brassage de l'air et une grande stabilité de la température).

C II Nourriture

C II 1 a) Méthodes standard

Il est classique de nourrir les collemboles à partir de levure de bière déshydratée en poudre. Cet aliment complet semble convenir aux besoins nutritifs de la plupart des espèces. Cependant l'utilisation de cette nourriture pose plusieurs problèmes. Il est difficile ou fastidieux de contrôler avec précision la quantité de nourriture introduite (pesée à chaque introduction). Il est conseillé de n'introduire qu'une très petite quantité de nourriture (Judith Najt, communication personnelle ; Usher et Stoneman (1977)) car un excès de levure non consommée dans les deux jours par les collemboles est rapidement envahi par des moisissures qui peuvent, pour certaines espèces, produire des hyphes envahissants dans lesquels les collemboles s'emprisonnent et meurent (Figure 13). D'autre part, la respiration générée par la croissance du champignon peut consommer tout l'oxygène présent dans la

boîte et anesthésier les collemboles (Zinkler & Platthaus 1996). Enfin, il est difficile d'enlever la levure en poudre introduite sans en laisser des petits fragments dans la boîte.

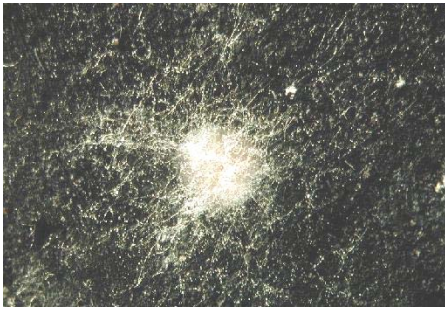


Figure 13 Un problème associé à la nourriture dans les élevages. Une pastille de levure non mangée est recouverte de moisissures en quelques jours. Le développement des hyphes peut être très rapide et entraîner la mort des collemboles qui s'y retrouvent piégés.

Pour certaines espèces de collemboles la levure ne convient pas et on utilise alors de la nourriture « naturelle » en introduisant des petits morceaux d'écorce d'arbre sur lesquels se trouvent des algues vertes de type *Pleurococcus*. Cette technique est habituellement utilisée pour nourrir *Orchesella cincta* (Joosse & Testerink 1977). Mais le contrôle de la quantité de nourriture apportée est difficile et les algues sont sensibles à l'invasion de champignons favorisés par l'atmosphère humide des boîtes d'élevage.

C II 1 b) Méthode mise au point

Dans nos expériences nous avons besoin de contrôler avec précision la quantité et la disponibilité des ressources nutritives et nous n'avons pu nous contenter des méthodes classiquement utilisées. Dans leur expérience, Ed Stam et al. ont contrôlé la quantité de nourriture ingérée en introduisant dans les boîtes d'élevage des petits cubes d'un mélange d'Agar et de levure puis en comptant dans le reste des cubes non mangés le nombre de particules de levure restant par rapport au nombre initial de particules de levure (Stam, Van De Leemkule et al. 1996). Nous nous sommes inspirés de cette méthode pour mettre au point des pastilles de levure répondant aux contraintes suivantes :

- Facilité de fabrication, de manipulation, de stockage.
- La nourriture non consommée ou infectée doit pouvoir être facilement retirée du milieu sans laisser de trace.
- La quantité de carbone introduit doit pouvoir être précisément contrôlée ou manipulée.

Pour cela nous avons créé des pastilles de nourriture à partir d'un mélange d'Agar et de levure déshydratée, de colorant alimentaire et de moldex. Le colorant alimentaire permet de mieux voir les pastilles de nourriture, de visualiser les individus qui se sont nourris (leur tube digestif prenant la couleur de la nourriture), et de repérer le moment où il est nécessaire de remplacer la nourriture. La couleur se dégrade lorsque des bactéries ou des champignons commencent à se développer sur la pastille de nourriture. Le moldex sert à ralentir le développement de moisissures. Il est utilisé dans la préparation des milieux pour l'élevage de drosophiles.

Recette : dans une fiole en verre mélanger sur un agitateur magnétique chauffant

Eau 15 mL

Agar 0.24 g

Porter le mélange quasiment à ébullition jusqu'à ce qu'il soit parfaitement translucide, puis introduire :

Levure en poudre 2.4 g

Colorant alimentaire 150 µL

Mélange de moldex ~300 µL

Conserver le mélange liquide en maintenant l'agitation (à $\sim 70^{\circ} - 80^{\circ}\text{C}$, en couvrant le pot pour éviter de le faire trop réduire). Puis, à l'aide d'une multipette, créer des pastilles de volume constant sur un support de plastique. Il peut être utile d'attendre quelques dizaines de secondes que le mélange refroidisse un peu dans la seringue de la multipette afin d'obtenir un mélange plus visqueux qui permettra de produire des pastilles plus ramassées. On peut créer ainsi des pastilles de 2 μL , 4 μL , 8 μL ,... Lorsque les pastilles sont sèches, on peut les décoller du support et les conserver longtemps jusqu'à leur utilisation (Figure 14).



Figure 14 Nourriture utilisée. Gauche : pastille de nourriture; droite, dans une boîte d'élevage, pastille de nourriture partiellement consommée.

C III Problèmes d'élevage

C III 1) Acariens

Certains acariens (Figure 15) peuvent trouver des bonnes conditions pour se développer dans les boîtes d'élevage en se nourrissant de la levure fournie aux collemboles ou des pelotes fécales de ces derniers. Leur développement peut être assez rapide et ils peuvent devenir encombrants. Une des manières de s'en débarrasser consiste à replacer les collemboles dans de nouvelles boîtes désinfectées et de maintenir au sein des étuves une atmosphère assez sèche que les acariens ne supportent pas, de manière à limiter leur capacité de dispersion entre boîtes et de colonisation de nouvelles boîtes.

C III 2) Maladies

Dans les élevages que nous avons maintenus plusieurs pathologies ont été observées (cf. Figure 15 et légende associée).

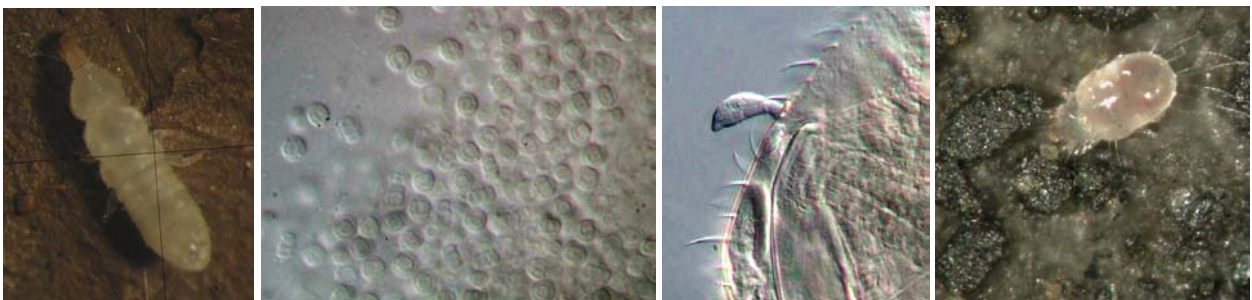


Figure 15 Différentes affections touchant *Folsomia candida*. Extrême gauche, un champignon attaquant les antennes des collemboles. Centre, aspect du corps d'un collemboule parasité. Son corps est rempli de sortes de petites spores. À droite un parasite planté sur la tête d'un *Folsomia*, peut être un laboulbeniale. Extrême droite : acarien pouvant infecter les élevages (à proximité d'une pelote fécale de collemboule).

D Mesures et biométrie

D I Mesures de taille et de croissance

D I 1 a) Méthodes classiques

Dans la majorité des études sur les collemboles, la taille est mesurée sur des individus morts montés entre lame et lamelle et observés au microscope à l'aide d'un oculaire réticulé. Cette méthode donne des mesures précises mais ne permet pas de suivre la croissance d'individus ou d'acquérir des données au cours de leur vie ou avant une expérience.

Les mesures de croissance effectuées sont en général faites sur des cohortes d'individus et un certain nombre d'individus est collecté à intervalles réguliers pour être mesurés. Très peu de mesures ont été faites sur des individus vivants et répétées au cours de leur vie.

D I 1 b) Méthodes mise au point

Nous avons mis au point différentes méthodes de mesures sur les individus vivants. La première consiste à déposer les individus vivant sur une goutte de liquide noir (eau+encre de chine) dans un tube de spectrographie. Une photographie est alors prise, avec le code de l'individu à côté. L'avantage de cette méthode est que les photos peuvent être analysées automatiquement à l'aide d'un programme, les codes pouvant être lus par des techniques de reconnaissance de caractère (Figure 16, gauche). En revanche la manipulation des collemboles est assez fastidieuse et comporte le risque de perdre des individus. Cette méthode fut utilisée dans nos premières expériences, puis remplacée par une méthode globalement plus efficace.

Les individus sont photographiés à l'aide d'un appareil photographique numérique monté sur une loupe binoculaire à focale et grossissement déterminé et constant. Les photos sont ensuite renommées à l'aide du logiciel « The Rename » (Thouzard 2003) qui permet d'associer à chaque photo le code de l'individu. Les images sont analysées à l'aide du logiciel ImageJ (Rasband 2003) qui permet de mesurer facilement la longueur de l'individu (de l'extrémité de la tête à l'extrémité postérieure de l'abdomen) même lorsqu'il est courbé (Figure 16, centre).

La conversion des mesures en pixel à des valeurs en mm a été effectuée après avoir calibré les mesures effectuées en photographiant dans des conditions standard un réticule de microscope.

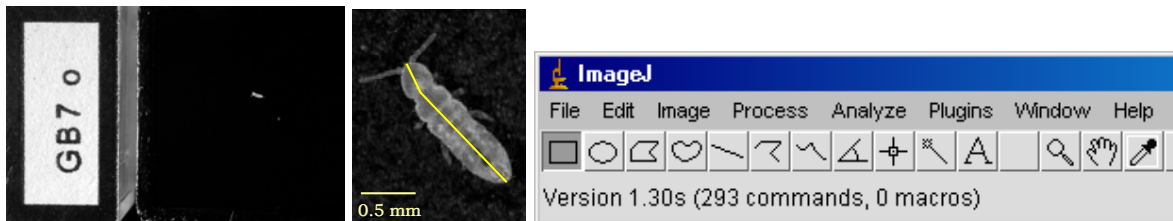


Figure 16 Analyse d'image pour les mesures de taille. Gauche, photos permettant une mesure automatique du collemboule et une lecture de son identité. Centre, mesure de longueur effectuée "à la main" sur une image numérique à l'aide du logiciel ImageJ. Droite, logiciel d'analyse d'images ImageJ utilisé pour les mesures de taille de collemboule ou de surface des œufs. Les mesures de surfaces ne peuvent être effectuées qu'à partir de photos noir et blanc en mode "niveau de gris".

D I 1 c) Mesure de répétabilité

La répétabilité est une mesure utilisée en génétique quantitative afin d'estimer la proportion de variance d'un caractère entre individus plutôt qu'au sein d'un individu (Lessells & Boag 1987).

$$r = (V_g + V_{eg}) / V_p$$

V_g : variance génotypique

V_{eg} : variance environnementale générale

V_p : variance phénotypique

Coefficient de corrélation intra-classe :

$$R = s^2_a / (s^2 + s^2_a)$$

s^2_a = variance entre groupe

s^2 = variance intragroupe

Ce paramètre permet d'estimer la qualité d'une mesure biométrique.

○ Taille corporelle

Nous avons photographié à dix reprises, huit collemboles appartenant à l'expérience de suivis individuels. Sur chaque photo, cinq mesures de taille corporelle ont été effectuées à l'aide du logiciel ImageJ (459 mesures). La répétabilité estimée des mesures est de **96%** (Tableau 1).

Tableau 1 Décomposition de la variance de la mesure de taille corporelle.

Niveaux	Écart type	Variance	Proportion de variance
Individu	28.57	816.35	0.9619
Photo	5.06	25.65	0.0302
Résiduelle	2.58	6.68	0.0079

D I 1 d) Estimation du volume des individus

À partir des mesures de taille, il est possible d'estimer un volume corporel sous l'approximation du corps d'un collembole par une forme cylindrique. Nous avons effectué une série de mesures afin d'estimer la relation entre longueur et largeur du corps. Le volume corporel des individus peut alors être estimé à partir de la relation linéaire existant entre longueur corporelle et largeur de l'abdomen (Figure 17) :

Équation 1 : Largeur de l'abdomen (mm) = 0.272*longueur (mm) – 5.36; $R^2=0.87$

$$\text{volume}(\text{mm}^3) = \text{longueur}(\text{mm}) * \pi * (0.272 * \text{longueur}(\text{mm}) - 5.36)^2 * 100 / 4 / 10000$$

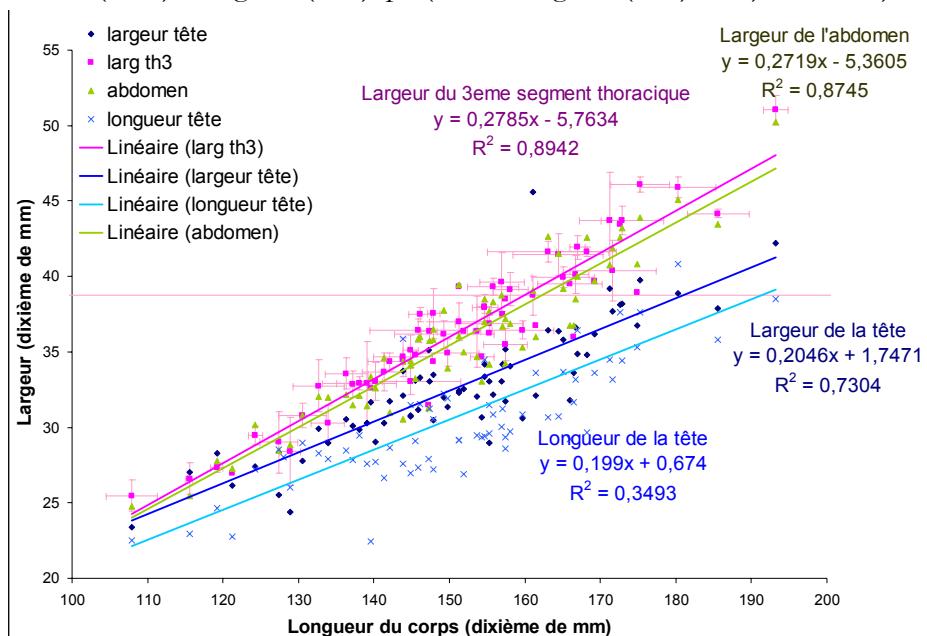


Figure 17 Mesures biométriques chez *Folsomia candida*. Différentes mesures de biométrie mettant en relation la longueur corporelle et la largeur de la tête, du thorax et de l'abdomen. Les mesures ont été effectuées sur 68 individus provenant de 10 clones différents.

D I 1 e) Mues

En général les *Folsomia candida* ne mangent pas leur mue, ce qui n'est pas le cas de tous les collembolés. *Tomocerus minor*, par exemple est un collembole qui mange sa mue (Joosse & Verhoef 1974), aliment riche en azote (Mira 2000). Ainsi, après la mue, l'exuvie est visible dans le milieu de culture et persiste plusieurs jours avant d'être dégradée par les bactéries. Cela rend possible la détermination du moment précis de la mue ou du nombre d'individus ayant mué. Voir Chapitre 2B II 3) et Figure 9 pour plus de détails.

D II Caractéristiques des pontes

D II 1 a) Nombre d'œufs

Des mesures de fécondité individuelle sont faites en comptant simplement le nombre d'œufs pondus présents dans les boîte d'élevage individuel.

D II 1 b) Taille des œufs

Afin de mesurer la surface des œufs, les œufs des pontes étudiées sont étalés sur une petite surface sur le fond de la boîte d'élevage à l'aide d'un pinceau fin humide. On évite ainsi que les œufs ne soient en contact les uns avec les autres, afin de permettre par la suite une détection numérique des bords de l'image. Chaque ponte a été photographiée dans des conditions de luminosité rasante pour augmenter le contraste entre les œufs clairs et le fond, et à un grossissement constant (Figure 18).

○ Protocole de mesure

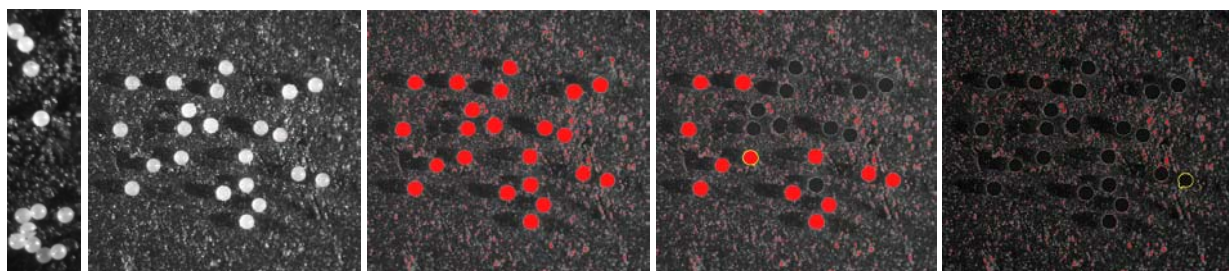


Figure 18 Mesure de la taille des œufs. Différentes étapes de mesure de surface des œufs : étalage des œufs, ajustement du niveau de gris séparant les œufs du fond, sélection et mesure des œufs un à un.

L'analyse des photos d'œufs se fait en trois étapes à l'aide du logiciel ImageJ :

- 1) Sélectionner le mode → *Image* → *Adjust* → *Threshold* et *Brightness/contrast*. Les œufs doivent apparaître en rouge comme plus ou moins sphériques (réajuster éventuellement en cours d'analyse en fonction de l'éclairage des œufs).
- 2) Cliquer sur l'icône → *Wand* pour sélectionner un œuf, celui-ci apparaîtra entouré de jaune. Utiliser le curseur pour avoir la meilleure définition de l'œuf possible tout en jouant sur le contraste
- 3) Une fois le contour de l'œuf correctement sélectionné, effectuer sa mesure (« Ctrl m » : surface, périmètre...) puis couper l'œuf mesuré de l'image afin de ne pas risquer de mesurer par erreur deux fois le même œuf. L'œuf retiré ne laissera plus que la forme noire de son emplacement. Procéder ainsi pour tous les œufs.

○ Forme des œufs

Lorsqu'un œuf est mesuré, une ellipse est ajustée sur le contour de l'œuf, et en plus de la surface de l'œuf, les deux axes de l'ellipses sont mesurés. La moyenne de ces deux axes est utilisée pour calculer le rayon moyen de l'œuf. Les œufs sont globalement sphériques, l'axe majeur est égal à 1.05 fois l'axe mineur ($R^2=0.999$). Ainsi la forme des œufs a été considérée comme sphérique, permettant le calcul

direct d'un volume d'œuf à partir du rayon moyen estimé. Les données pour lesquelles le rapport longueur sur largeur n'est pas proche de un n'ont pas été prises en compte dans les analyses.

○ Mesure de répétabilité de la surface des œufs

Quatre pontes contenant respectivement 36, 7, 12 et 12 œufs (67 œufs différents au total) ont été photographiées chacune quatre fois. La surface des œufs a ensuite été mesurée sur chaque photo (268 mesures). La répétabilité ainsi estimée est de **79 %**.

D II 1 c) Fertilité des œufs

Dans la majorité des expériences réalisées, les œufs ne sont pas ôtés des boîtes lorsqu'ils sont découverts mais y séjournent environ 4 jours. Avant d'être enlevés, les pontes sont de nouveau inspectées et il est alors possible de distinguer les œufs fertiles dont l'embryon a commencé à se développer (entraînant la rupture du chorion et la modification de la forme de l'œuf) tandis que les œufs stériles gardent une forme sphérique et prennent une teinte jaune orangé caractéristique (cf. Figure 6 et Figure 19). Grâce à ce deuxième comptage nous avons pu estimer la proportion d'œufs stériles d'un grand nombre de pontes.



Figure 19 Estimation de la proportion d'œufs stériles. Parmi ces œufs vieux d'environ 4 jours, il est aisé de distinguer trois œufs stériles gardant une forme ronde et petite (flèches). À droite, à côté d'un jeune nouveau-né se trouvent trois œufs dont un seul s'est développé (on distingue le chorion en train de se déchirer).

D III Caractérisation des clones

D III 1) Identification des espèces

Les espèces ont été identifiées à l'aide de l'ouvrage de Gisin (1960) et la clef de détermination en ligne mise en place par Frans Janssens¹⁰ (2004). Une des caractéristiques de *Folsomia candida* est que le manubrium comporte 16 à 32 soies du côté ventral (Figure 20).



Figure 20 Furca de *Folsomia candida* : montage entre lame et lamelle. Au centre, le côté ventral des dens montre la présence d'environ 27 soies. À droite, détail de l'extrémité de l'abdomen d'un *Folsomia candida* montrant la structure de la furca.

¹⁰ <http://www.collembola.org/>

D III 2) Marqueurs moléculaires

Afin de pouvoir connaître l'identité génétique d'un individu (son clone d'appartenance), notamment lors d'expérience de compétition entre clones au cours desquelles plusieurs individus de clones différents sont mélangés, nous¹¹ avons mis au point et utilisé une technique de marqueurs moléculaires, les RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).

D III 2 a) Amorces

Nous avons utilisé comme amorces de RAPD les amorces proposées par Chenon (Chenon, Rousset et al. 2000), répertoriés dans le Tableau 2.

Tableau 2 Séquences des différentes amorces utilisées en RAPD (Chenon, Rousset et al. 2000).

Primer	Séquence
A7	GAAACGGGTG
A9	GGGTAACGCC
A10	GTGATCGCAG
A11	CAATCGCCGT
A18	AGGTGACCGT

D III 2 b) Protocole

We have based our protocol on the protocol described by Chenon (2000) with several modifications.

○ Extraction et digestion de l'ADN

1. Collembola can be stored in small microtubes filled with in technical alcohol for several months and probably years.
2. Collembola are placed singly in small microtubes in which 50 µL of SB buffer (TE [tris: 10 mM, EDTA: 1 mM], NaCl [25mM], Protein K [200 µg/mL]) is added after the alcohol has dried out (be careful, the dried collembola can easily be lost because of their small weight).
1. Crush the collembola in the tube with the help of thin forceps or of a yellow tip. Although quite painful and time consuming, it is important to carefully crush the collembola.
2. Incubate the tubes at 55°C during ~30min (or a little more) for the digestion
3. Stop the digestion by inactivating the proteinase K by heating the tubes to ~95°C (>75°C) during 1 r 2 minutes.
4. It is the recommended to vortex the plate containing the tubes and then to centrifuge it (if one has the appropriate centrifugal machine).

○ Amplification de l'ADN (PCR)

5. In the tubes for PCR introduce 1 or 2 µL of the DNA (from the previous tubes).
6. Introduce some mix –PCR (cf. Tableau 3) so that the volume in the tube is 20µL (Introduce 19 µL of mix with 1 µL of DNA for example).
7. Shake the mix and DNA in the PCR tubes.
8. Do the PCR: **95°C[10min] – (95°C [10s] – 36°C [30s] – 72°C [1min])x40 – 72°C [2min] – 4°C [n min]**

¹¹ Le développement et la mise au point du protocole a été effectué par Murielle Richard

Tableau 3 Preparation of the PCR Mix. Prepare the mix for the number of sample one has to study (+1) in a 1.5 mL microtube and then distribute 19 µL of the mix in each PCR tube. It is important to shake well the tube of mix after each introduction (2,3,4) except after introducing the TAQ because this can damage the enzyme. Shake the tube gently after the introduction of the TAQ.

Order	Product	Original Concentration	PER SAMPLE (ML)	for 96 sample (x98)
1	H ₂ O		16 (or 15 if one uses 2µL of DNA)	1568/1470
2	B (incubation mix with MgCl ₂)	10 X	2	196
3	dNTP	10 mM	0.6	58.8
4	Primer	20 µM	0.3	29.4
5	TAQ	5 µ/µL	0.1	9.8
			=19 (or 18) µL	1862/1764

9. When the PCR is finished, introduce 2 µL of “stop” in each tube (with a multipette).

○ Gels

According to the number of sample to be processed, two kinds (size) of agarose gel can be produced:

10. Minigel: Agarose, 1.5% (mass)

- Mix in an Erlenmeyer 0.8 g of agarose et 50 mL of TBE buffer (1x)
- Heat it in a microwave until it nearly boils. The mixture has to be completely translucent.
- Allow the solution to cool to 60 °C by running cold tap water on the Erlenmeyer.
- Add 2.5 to 3 µL of BET (20 mg/mL) and shake gently
- Pour agarose unto the gel mold with the comb, remove bubbles if necessary and allow to solidify.

11. Maxigel:

- 4.5 g Agarose et 300 mL of TBE buffer
- 15 µL BET

12. Fill the electrode tank with 0.5x TBE buffer

13. Remove masking tape from both ends of the gel mold. Mount the gel mold on to the electrode tank making sure no bubbles form beneath the mold.

14. Gently remove the comb.

15. Then load 5µL of DNA ladder in the first agarose gel well and 10µL of each reaction mixture in the succeeding wells.

16. Close tank and attach electrode wires to the power supply. Run for 1-3 h at 100-110 V/ 70mA. (check regularly to see how fast it migrates)

17. After electrophoresis, switch off the power supply and remove the tank cover.

18. Photograph the gel under UV light.

D IV Caractérisation des populations

Afin de décrire la dynamique de populations de collemboles, il est nécessaire de pouvoir compter et mesurer avec autant de précision possible le nombre d’individus dans les populations étudiées. Les tailles des populations de collemboles pouvant être très élevées en élevage (>1500 individus par boîte de 21 cm²), il est impossible de suivre leur dynamique en comptant les individus *in vivo* ou même sur des photos. Nous avons développé des outils informatiques permettant un comptage et une mesure automatique des individus, sur des photos numériques des populations d’élevage.

Pour une bonne reconnaissance des bordures des collemboles, il est nécessaire d'avoir un fort contraste entre les collemboles (blancs) et le fond de la boîte. Pour cela nous avons assombri le fond des boîtes (cf. page 34) ; malgré cela, une simple mesure des individus utilisant le contraste demeure très imprécise car beaucoup de bruit est introduit par des petits reflets ou des particules claires (mues, restes de nourriture, poussières, pontes) au fond de la boîte qui risquent d'être comptés comme des collemboles. De plus cette méthode simple est très sensible à un éclairage inhomogène de la boîte. Une technique un peu plus élaborée fut décrite par Krogh (1998). Les auteurs proposent de transférer les individus sur un milieu très foncé puis de les endormir avec du CO₂, d'étaler les individus endormis, puis de scanner la boîte à l'aide d'un appareil photo numérique pour analyser enfin ces images (comptage et mesure des individus). Cette méthode est assez fastidieuse (nombreuses manipulations) et nous avons pu remarquer que les collemboles ont tendance à se recroqueviller lorsqu'ils sont anesthésiés, ce qui va inévitablement affecter les mesures de taille.

Nous avons utilisé une méthode plus simple et très efficace qui consiste à prendre successivement plusieurs photos (2 à 4) des boîtes d'élevage dans des conditions strictement identiques (éclairage, position de la boîte). Les conditions doivent être identiques entre ces 2 à 4 photos mais pas entre photos de boîtes différentes. Il est nécessaire de détacher les individus accolés aux parois de la boîte et de faire bouger les collemboles dans la boîte juste avant le déclenchement de l'appareil (souffler légèrement à l'aide d'un aspirateur à insecte). Les photos sont par la suite renommées (AP1-1.JPG, AP1-2.JPG, AP1-3.JPG, AP1-4.JPG pour les 4 photos de la boîte AP1 par exemple) puis analysées en plusieurs étapes :

Pour chaque boîte l'analyse d'image consiste à :

- Ouvrir dans une pile d'images (« stack ») les 4 images de la boîte.
- Repérer et effacer les images qui sont éventuellement non alignées les unes avec les autres (boîte ou appareil photo bougé par exemple).
- Inverser les images (noir-blanc).
- Construire une image prenant pour chaque pixel la valeur la plus grande (entre 0 et 255) des images de la pile ce qui correspond à la valeur la plus sombre des images non inversées. Cette image correspond en fait à une image de la boîte sans les particules claires qui ont bougées d'une photo à l'autre, c'est à dire finalement sans les collemboles vivants.
- L'image du fond est analysée pour mesurer le contour de la boîte, ce qui va servir de mesure de référence (surface connue) et permettre de définir la zone sur laquelle les collemboles sont mesurés.
- L'image du fond est soustraite à la pile d'images réinversées, ce qui permet de générer une nouvelle pile d'images avec uniquement les collemboles ; le contour de la boîte est chargé sur cette image. L'observateur doit alors ajuster le niveau du seuil permettant de délimiter les particules qui vont être mesurées afin de minimiser le bruit de fond et les contacts entre collemboles jointifs.
- Les particules sont ensuite mesurées sur la surface de la boîte en limitant la taille minimale et maximale des particules mesurables. Sont mesurées (en pixels), pour chaque particule, sa surface, sa largeur et sa longueur (grand et petit axe d'une ellipse ajustée sur la particule).
- Les données sont importées dans une base de données.
- Pour chaque photo une mesure de la section de la boîte est effectuée et sert de mesure de référence pour convertir ensuite les pixels des mesures en mesures métriques.

E Constitution d'une banque de clones

Au cours de la mise au point du protocole d'étude de cette espèce, une douzaine de clones ont été collectés à partir de différentes sources d'origines géographiques variées.

E I Présentation des clones collectés

Tout au long de ce mémoire, chaque clone est désigné par deux lettres et une couleur standard associée.

AP

Souche fournie par Mme **Arlette Provensal**.

Origine : pot de fleur, 12 rue Cuvier, Paris 5^{ème}.

Pays : France

BV

Souche fournie par Mme **Barbara Viginier**.

Origine : pot de fleur, Paris

Pays : France

BR

Souche « **BRunoy** » ;

Souche fournie par Pr. Guy Vannier (MNHN, Brunoy) le 7 juin 2001. La souche a été collectée dans le parc du Petit Château à Brunoy et a été conservée en élevage à Brunoy dans un large cristalliseur par M. Vannier depuis 1975 (Vannier, communication personnelle).

Pays : France

Cette souche a fait l'objet de nombreuses études (Vannier & Verdier 1981 ; Stam, Van De Leemkule et al. 1996).

DK

Souche « **DanemarK** ».

D'après Simonsen et Christensen (2001), cette souche est en fait originaire de Berlin (Allemagne).

GB

Souche "**Great Britain**"

Cette souche est originaire d'Angleterre. Nous disposons de la population mère (UK) ainsi que d'une lignée isofemelle constituée en automne 1998 (GB5).

D'après Simonsen et Christensen (2001), cette souche provient de Norwich après avoir passé plusieurs années en élevage dans le laboratoire de Dr. van Gerstel (Université Libre d'Amsterdam). Elle semble en outre être à l'origine du clone 6 étudié par Chenon, Rousset et Crouau (2000). Ces auteurs indiquent que la souche provient d'un compost anglais et a été mise en élevage en 1977. Ceci laisse supposer qu'il s'agit de la souche étudiée par Usher et Stoneman (1977) provenant selon ces auteurs de fibres de bulbes commercialisées. Si tel est le cas, il est probable que cette souche a la même origine que la souche « York » étudiée par Stam et al. (1996) et Crommentuijn et al. (1995). Ainsi l'origine « naturelle » de cette souche reste assez imprécise (importation possible du compost d'où elle est issue). Dans les élevages de masse, cette souche semble se stabiliser avec une structure démographique particulière caractérisée par la présence quasi exclusive d'adultes.

GM

Souche « **Grotte de Moulis** » ;

Fournie par Cyrille d'Haese (MNHN). La souche provient de l'humus devant l'entrée de la grotte de Moulis. Cette population est née des deux derniers individus restants en élevage au MNHN.

Pays : France.

HA

Souche « **HAren** »

Donnée par Ger Ernsting (Université Libre d'Amsterdam), elle provient de Haren qui se trouve à proximité de Groningen aux Pays-Bas.

PB

Souche « **Paul Bert** ».

Origine : pot de fleur, Paris (rue Paul Bert ;-).

Pays : France

US

Souche « **United States (of North America)** ».

Cette souche provient à l'origine du laboratoire de Renate Snider au Massachusetts. Elle a été envoyée à partir du Danemark en 1998. Une lignée isofemelle a été isolée de la population mère (USA).

Pays : États-Unis d'Amérique du Nord.

TO

Souche de la grotte de **Touasse Peyrou**.

Origine : souche récoltée dans la grotte de Touasse (Taurignan Vieux, Ariège, France) par Louis Deharveng et Anne Bedos. Elle nous a été fournie en 2001.

WI

Souche « **Wisconsin** »

Origine : quelques individus présents dans un élevage de *Sinella curviseta* provenant du Dr. Michael L. Draney¹²

Pays : États-Unis d'Amérique du Nord ?

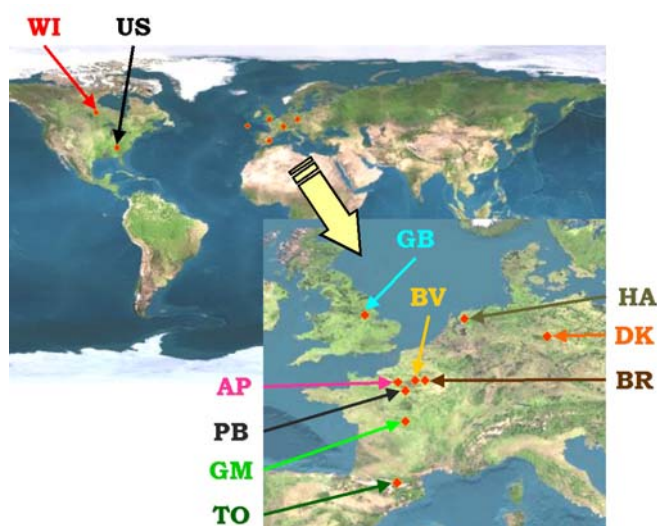


Figure 21 Localisation des origines géographiques probables de chaque clone.

Tableau 4 Origine des 11 souches étudiées

Souche	Origine naturelle	Localisation	Pays	Fondation
AP	Pot de fleur	Paris	France	2000
BR	Bûche	Brunoy	France	1975
BV	Pot de fleur	Paris	France	2001
DK	Forêt	Berlin	Allemagne	1975
GB	Compost	York	Royaumes-Uni	1977 ?
GM	Grotte	Moulis	France	<2000
HA	Forêt de pins	Haren	Pays-Bas	
PB	Pot de fleur	Paris	France	1999

¹² Department of Natural and Applied Science University of Wisconsin-Green Bay 2420 Nicolet Drive, Green Bay WI 54311

TO	Grotte	Touasse, Taurignan Vieux, Ariège	France	2001
US	Culture	Michigan	États-Unis	<1973
WI	?	Wisconsin	États-Unis	?

Les souches GB, DK et US proviennent du Département d'Écologie Terrestre de Silkeborg (Danemark)¹³. Elles ont été envoyées par Heidi Sjursen et Christina Weidick Kærsgaard. Christina Weidick Kærsgaard a étudié la résistance de ces trois souches aux stress hydriques (7 jours à différents niveaux d'humidité de 100% RH à 96%RH) et thermiques (3 jours à -3°C , $+2,5^{\circ}$, $+20^{\circ}\text{C}$ ou 2 heures de 20 à 36°C), en termes de survie et de fécondité (mesurée en nombre de jeunes nés par unité de temps). Dans tous les cas la souche GB est la plus sensible alors que les performances des souches US et DK sont sensiblement identiques.

Enfin, plusieurs autres souches ont été collectées plus tardivement (fournies par Tom van Dooren de Leyde aux Pays-Bas, et Thibaud Desquilbet de Paris, France) mais n'ont pas fait l'objet d'étude particulière dans le cadre des travaux présentés ici.

E II Marqueurs moléculaires

E II 1) Identification des clones

Les marqueurs moléculaires utilisés ont révélé un fort degré de polymorphisme entre les clones et peuvent donc servir à identifier ces derniers.

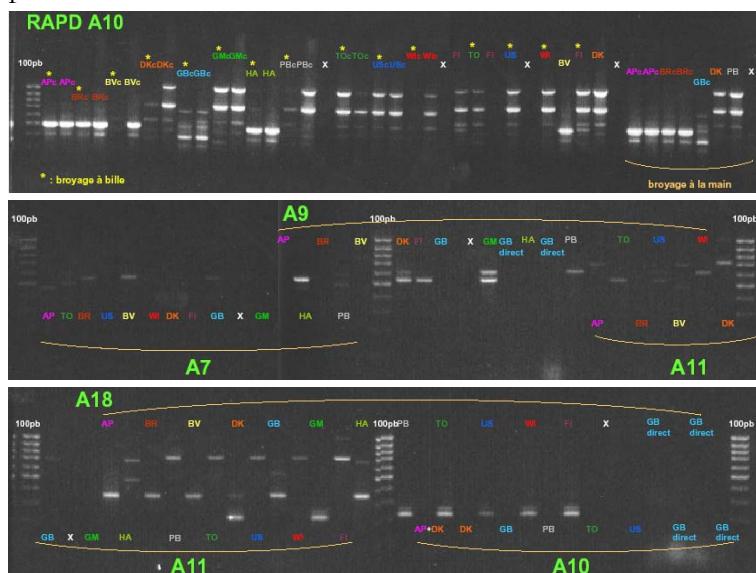


Figure 22 Marqueurs moléculaires RAPD à partir des amorces A7, A9, A10, A11, A18 sur les 11 clones.

E III Relations phylétiques

Nous¹⁴ avons reconstruit les relations d'apparentement entre clones en utilisant les caractères des bandes présentes sur les gels de RAPD. Chaque bande a été considérée comme un caractère indépendant présent ou absent pour chacun des clones. De plus, nous avons utilisé les séquences d'ARN 18 et 28 S que nous avons par ailleurs séquencées pour les clones DK, GB, GM, HA, US, WI. Nous avons en outre utilisé comme groupe extérieur *Isotoma viridis* avec comme caractères les séquences d'ARN 18 et 28 S. La matrice de caractères a été analysée au moyen du logiciel Winclada (Nixon 1999). *Isotoma viridis* a permis d'enraciner l'arbre.

¹³ National Environmental Research Institute - Department of Terrestrial Ecology - Vejlsovej 25 - P.O. Box 314 - DK-8600 Silkeborg - Denmark

¹⁴ Cyrille d'Haese et moi même.

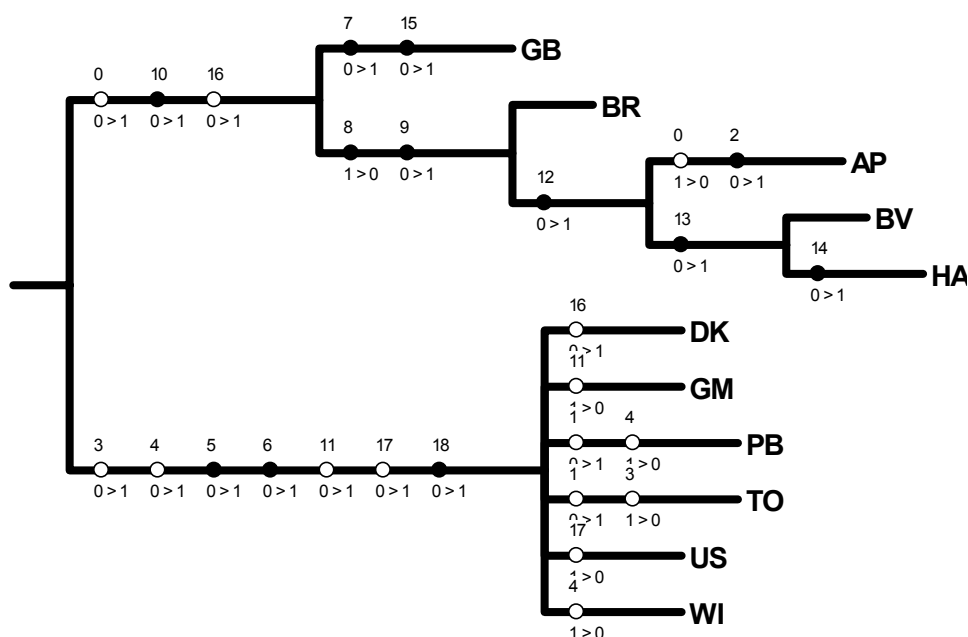
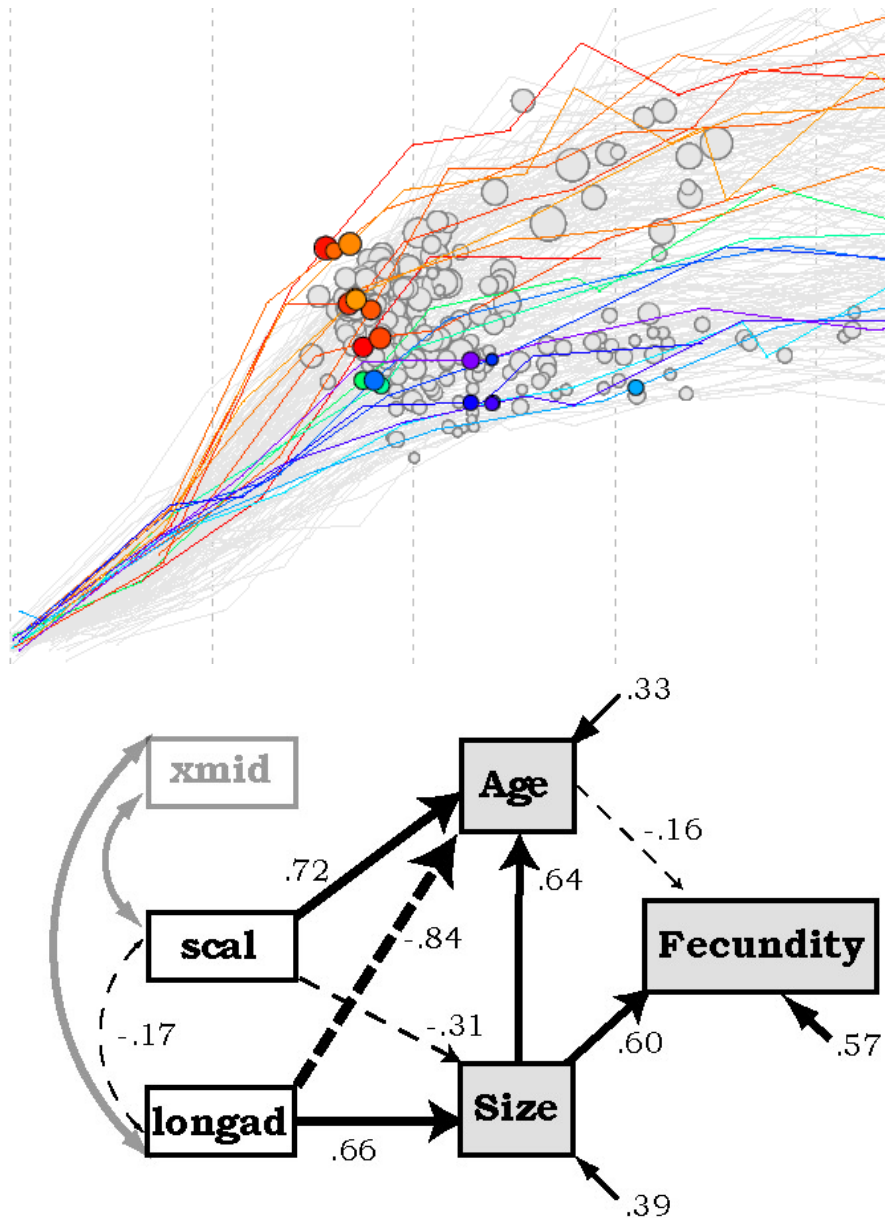


Figure 23 Arbre phylogénétique consensus des 19 arbres trouvés. Chaque point représente un changement d'état de caractère. La longueur des branches est proportionnelle au nombre de changement d'états. Les traits étudiés n'étant pas indépendants, ces distances doivent être interprétées avec précaution. La topologie de l'arbre est en revanche riche de sens.

L'arbre consensus résultant de cette analyse (Figure 23) indique que la banque de clone se divise en deux groupes très distincts. L'un d'entre eux regroupe les clones DK, GM, PB, TO, US et WI et sa topologie précise n'est pas résolue (râteau) sans doute à cause du nombre trop réduit de caractères. Dans le second groupe, la topologie est mieux résolue et on peut noter l'enracinement à la base du clone GB.

Après avoir présenté notre matériel d'étude, sa biologie, l'origine et les relations phylogénétiques des clones isolés ainsi que les méthodes expérimentales, nous allons maintenant découvrir les premiers stades de la palpitante vie des collembolés en étudiant les paramètres de leur développement embryonnaire et larvaire, de leur croissance corporelle et de leur maturation.

Chapitre 3 DEVELOPPEMENT, CROISSANCE ET MATURATION



"Les shadoks pondaient des œufs en fer. Ils avaient trouvé ça astucieux étant donné que comme ils avaient de trop longues pattes, les œufs ordinaires se cassaient. D'un côté, évidemment, les œufs en fer, c'était pratique, mais d'un autre côté, pas tellement, car non seulement, ils ne se cassaient pas, mais ils ne se cassaient pas... ils ne se cassaient pas du tout. Si bien que quand l'œuf était mûr, en quelque sorte, le shadok qui était dedans ne pouvait pas sortir. Les œufs, naturellement, ne cassaient pas, mais le plus souvent malheureusement, il faut l'avouer, c'était le shadok à l'intérieur qui se cassait. Alors, alors au lieu de couvrir leurs œufs naturellement comme vous l'auriez fait vous et moi, les shadoks les mettaient à rouiller. Et ça prenait... ça prenait pas mal de temps, et souvent, le shadok était déjà très vieux quand il sortait. Et ça valait vraiment plus la peine."

A Introduction

A I L'évolution des stratégies de croissance et de maturation

Les paramètres du cycle de vie que sont la durée de développement embryonnaire, l'âge et la taille à maturité sont des composantes importantes de la valeur sélective des individus et du taux de croissance intrinsèque d'une espèce. Au cours des premiers stades de son cycle de vie, un organisme est en général de petite taille. De ce fait il est souvent particulièrement sensible aux facteurs de mortalité extrinsèques. Sa capacité d'acquisition de ressources est souvent réduite ainsi que sa possibilité d'investir dans la reproduction. D'où la nécessité de s'engager dans une phase de croissance corporelle. Celle-ci est extrêmement consommatrice de ressources. À ce stade de vie les ressources sont en général un élément limitant et très fortement requis ; il est donc raisonnable de considérer qu'il va s'établir un net compromis dans l'allocation de ces ressources dans la croissance et la reproduction (Kozłowski 1992 ; Roff 2000).

L'organisme doit donc répondre de manière optimale à deux questions (Figure 24) :

- À partir de quel âge l'organisme doit-il investir une partie de ses ressources dans la reproduction ?
- Quelle proportion des ressources doit alors être investie ?

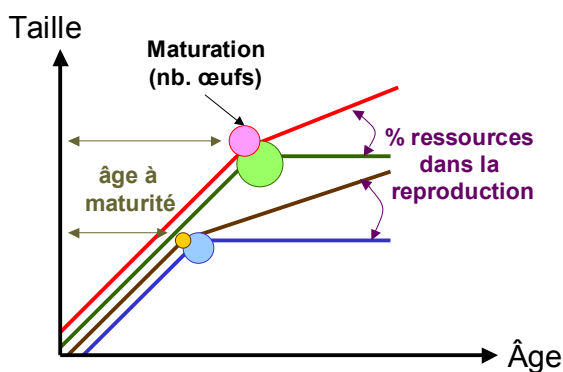


Figure 24 Différentes stratégies de maturation selon l'âge à maturité et la proportion de ressources allouées dans la reproduction. La surface des cercles matérialise la taille de ponte. Plus la maturation est précoce, plus la taille à maturité est petite et plus la fécondité à maturité est réduite. D'autre part, plus la proportion de ressources allouées dans la reproduction est grande, plus la fécondité est élevée mais plus la croissance post-reproduction est réduite.

○ Bases du compromis entre âge et taille à maturité

Toutes choses étant égales par ailleurs, il est avantageux pour un organisme de devenir mature le plus tôt possible (Fisher, 1930) pour essentiellement deux raisons : une maturation précoce (1) réduit la mortalité juvénile¹⁵ et (2) accélère le cycle des générations. Une maturation précoce va donc être particulièrement avantageuse lorsque la mortalité juvénile (extrinsèque) est forte ou bien lorsque l'individu se trouve dans une population en croissance (Caswell 1982).

Mais une maturation précoce va réduire le temps disponible pour la croissance du juvénile. La taille à maturité sera donc plus faible. Or le succès reproductif est en général une fonction croissante de la taille corporelle. Les femelles de grande taille peuvent en général produire un plus grand nombre de jeunes et lorsque les mâles sont en concurrence pour l'accès aux femelles, les mâles de plus grande taille sont en général avantagés (Roff 1992). D'autre part, les taux de croissance¹⁶ sont souvent

¹⁵ On appelle "juvénile" un individu encore immature

¹⁶ Le terme "croissance" utilisé sans qualificatif désigne la croissance corporelle ; la croissance des populations est toujours désignée explicitement comme telle sauf peut-être lorsqu'aucune ambiguïté n'est à craindre.

dépendants de la taille. Ralentir la croissance afin d'atteindre la maturité plus tôt peut influencer profondément la vitesse de croissance, la survie et la fécondité future. Enfin, les stratégies d'allocation de ressources entre croissance et reproduction peuvent être affectées par la disponibilité en ressources et la prévisibilité de cette disponibilité qui peuvent elles-mêmes affecter, par exemple, la mortalité extrinsèque des individus et des jeunes qu'ils vont produire.

Étant donnée l'augmentation générale de la fécondité avec la taille corporelle, le compromis entre croissance et reproduction revient à un compromis entre reproduction actuelle et reproduction future. On peut donc s'attendre à ce qu'un organisme ajuste l'âge à partir duquel il va se reproduire en fonction des coûts et bénéfices associés à un âge et une taille à maturité plus ou moins élevés.

○ Évolution le long d'une trajectoire de croissance

Sur une trajectoire de croissance donnée, la stratégie de maturation optimale peut varier sous l'effet de différents facteurs, notamment du taux de mortalité.

Si la mortalité extrinsèque dépend de l'âge, une augmentation de la mortalité tardive va entraîner l'évolution d'une maturation plus précoce. Cette réponse a été observée dans plusieurs systèmes empiriques (Edley & Law 1988 ; Reznick, Butler et al. 1996 ; Olsen, Heino et al. 2004). Si en revanche la mortalité des jeunes augmente, la fécondité subit une pression de sélection plus forte ; un âge à maturité retardé est donc favorisé.

Si la mortalité extrinsèque dépend du stade de vie, notamment lorsque l'immature et l'adulte ne partagent pas les mêmes niches écologiques, alors une augmentation de la mortalité sur l'un des stades va exercer une pression de sélection favorisant une réduction du temps passé par les organismes dans ce stade : une mortalité adulte accrue conduit dans ce cas à une augmentation de l'âge à maturité.

○ Plasticité de la maturation

Les trajectoires de croissance (taux de croissance, taille asymptotique) varient selon les conditions environnementales. La fonction décrivant la manière dont changent l'âge et la taille à maturité en fonction des paramètres de la courbe de croissance représente la norme de réaction pour l'âge et la taille à maturité (Stearns & Koella 1986).

Si le taux de croissance augmente, il peut sembler à priori avantageux de retarder la maturation afin de profiter du bénéfice réalisé en terme de taille corporelle lors de la maturation, susceptible de se traduire par une augmentation de la fécondité à maturité (Perrin & Rubin 1990 ; Roff 1992). Mais les trajectoires de croissances étant asymptotiques, à partir d'un certain âge, l'augmentation marginale de la fécondité liée à un retard de maturation diminue. En fin de croissance, le taux de croissance diminue et il peut alors être intéressant de devenir mature plus tôt. Le bénéfice d'un retard de la maturation lorsque la vitesse de croissance est augmentée va dépendre de la position relative de l'individu sur sa trajectoire de croissance.

Il est donc essentiel de mesurer avec précision les trajectoires de croissance suivies par les organismes et de déterminer quels sont les paramètres de ces trajectoires de croissance qui changent sous l'effet des facteurs environnementaux et génétiques afin de pouvoir confirmer ou réfuter les théories présentées.

La norme de réaction pour l'âge et la taille à maturité peut prendre plusieurs formes. Deux stratégies de maturation extrêmes non plastiques peuvent être considérées (Stearns 1992) : la première consiste à devenir mature à partir du moment où l'organisme atteint une certaine taille (règle 1, Figure 25). Le risque de cette stratégie se manifeste dans des conditions environnementales défavorables (faible nourriture) : la croissance peut alors être ralentie au point qu'il faut à l'organisme un temps très long pour atteindre cette taille à maturité critique. Le risque de mourir avant de se reproduire peut alors devenir très important. La deuxième stratégie consiste à atteindre la maturité à partir d'un certain âge, quel que soit la taille que l'on a atteint à cet âge (règle 2, Figure 25). À nouveau, dans des conditions de croissance ralentie, la maturation peut avoir lieu alors que l'individu est très petit, se traduisant par une très faible fécondité ; si au contraire la croissance est très rapide, une maturation plus précoce pourrait

être avantageuse. Face à ces dilemmes, on peut prédire que les organismes suivent une règle intermédiaire permettant d'effectuer un compromis entre coûts qui s'expriment en temps et en mortalité d'une part, et en fécondité d'autre part (règle 3, Figure 25). L'âge et la taille à maturité sont alors deux traits plastiques qui vont dépendre de la trajectoire de croissance de l'individu, elle-même en partie déterminée par les conditions environnementales (Stearns & Koella 1986).

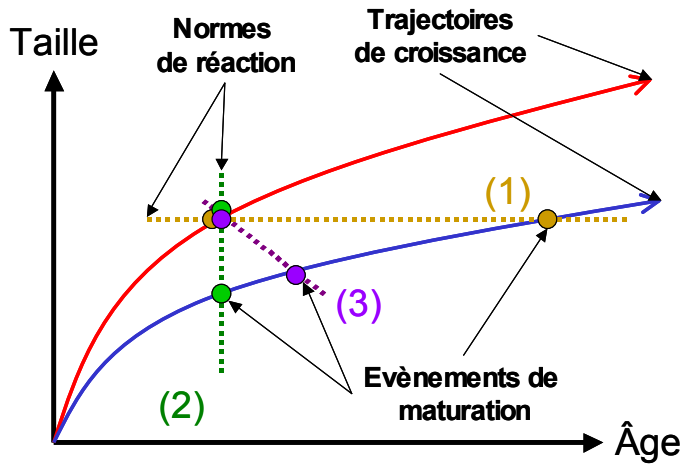


Figure 25 Interprétation graphique des trois règles de maturation d'après Stearns (1992). Voir texte pour détails.

○ Limites des modèles actuels

La plupart des modèles évoqués ci-dessus (revus par Roff 2001) recherchent la combinaison de valeurs de traits qui maximisent la valeur reproductive des individus. Ils supposent que la sélection naturelle favorise cette combinaison de valeurs. Ils se basent sur l'existence de compromis entre taille à maturité et âge à maturité d'une part, et taille à maturité et fécondité d'autre part, compromis dont on suppose qu'il reposent au moins en partie sur des corrélations génétiques.

Il convient de remarquer que les prédictions de ces modèles d'optimisation dépendent de la manière dont la valeur sélective est mesurée, par le taux d'accroissement intrinsèque r ou le succès reproductif total R_0 (Heino & Kaitala 1999). Or la valeur sélective pertinente dépend du contexte démographique et environnemental dans lequel la sélection s'effectue. La boucle de rétroaction éco-évolutive n'est généralement pas prise en compte (Ferrière & Clobert 1992 ; Metz, Nisbet et al. 1992). D'autre part, ces modèles n'incorporent généralement pas les contraintes génétiques autres que celles supposée liées aux contraintes d'allocation de ressource détaillées ci-dessus (Roff 2001).

○ Corrélations génétiques entre les paramètres de la maturation

Les modèles supposent l'existence de corrélations génétiques positives entre âge et taille à maturité, entre taille et fécondité à la maturité, et entre âge et fécondité à la maturité. Peu de données empiriques permettent de mesurer ces trois corrélations. Si des corrélations génétiques positives sont généralement observées entre taille et fécondité à maturité, Roff (2000) souligne que l'existence d'une corrélation génétique entre âge et taille d'une part et taille et fécondité d'autre part ne permet pas de conclure quant à l'existence d'un compromis génétique entre âge et fécondité. Or les mesures de telles corrélations se comptent sur les doigts d'une main et la question de l'existence générale d'un tel compromis reste en suspens (Roff 2001).

○ Seuil développemental

Les modèles étudiant la manière dont l'âge et la taille à maturité changent en fonction du taux de croissance prédisent une grande diversité de formes de cette norme de réaction selon les hypothèses retenues (Stearns & Koella 1986 ; Berrigan & Koella 1994). Cependant chez la plupart des espèces, l'âge à maturité diminue et la taille à maturité augmente lorsque les conditions s'améliorent et

permettent une croissance plus rapide (Stearns & Koella 1986 ; Berrigan & Charnov 1994 ; Day & Rowe 2002). Considérer qu'il existe un seuil développemental minimum à atteindre pour pouvoir devenir mature suffit à prédire ce type de réponse. Wilbur et Collins (1973) ont proposé un modèle verbal incluant ce type de seuil : un organisme doit atteindre une taille minimale pour avoir la possibilité de se reproduire, il est alors capable de retarder sa maturation après avoir atteint ce seuil de manière adaptative, en fonction de ses conditions de croissance. Lorsque les conditions de croissance sont bonnes, le seuil est atteint rapidement et la maturation est retardée afin d'atteindre une taille plus élevée à la première reproduction. Lorsque la croissance est lente, l'organisme va se reproduire rapidement après avoir atteint ce seuil qui peut, en revanche, être atteint très tardivement. Day et Rowe (Day & Rowe 2002) ont formalisé ce modèle afin d'en préciser les prédictions et montrent que les normes de réaction qui en résultent ont une forme de "L" : plus les conditions de croissance sont bonnes, plus la maturation est à la fois précoce et à une taille élevée.

Cette vision semble confortée par le fait que de nombreuses données empiriques suggèrent que la maturation est effectivement déclenchée à partir du moment où l'individu franchit, au cours de sa trajectoire de croissance, une taille corporelle critique (revue par Roff 2000), taille qui dépend de la valeur du seuil et de la trajectoire de croissance. Dans ce contexte on peut retenir le schéma de causalité suivant : l'âge à maturité serait une conséquence secondaire de la taille à maturité.

○ Croissance indéterminée

De nombreux modèles ont cherché à prédire la stratégie optimale selon laquelle un individu va, le long de sa trajectoire de croissance, à un âge donné, basculer une partie des ressources allouées à la croissance vers la reproduction. Les modèles qui étudient l'intensité de ce basculement, prédisent, pour les plus simples d'entre eux, qu'une stratégie optimale consiste à effectuer un basculement complet d'allocation d'énergie vers la reproduction (Figure 24). L'individu va avoir une croissance maximale jusqu'à un certain âge à partir duquel la croissance s'arrête et l'investissement dans la reproduction est alors maximal (Kozlowski 1992 ; Perrin & Sibly 1993). Cependant, de nombreux organismes ont des croissances dites indéterminées, c'est à dire se poursuivant après la maturation, voire tout au long de la vie. De nombreux taxons "d'invertébrés" mais aussi de vertébrés (poissons, amphibiens, lézard et serpents) ou encore de végétaux présentent ce patron de croissance. Une croissance indéterminée signifie qu'à la maturité le basculement des ressources n'est que partiel. Comment concilier ces observations avec les modèles ? Pourquoi la croissance continue-t-elle généralement après la maturation ?

Plusieurs explications ont été invoquées pour résoudre ce paradoxe (Perrin & Sibly 1993). Une croissance indéterminée pourrait consister une stratégie de "bet-hedging", c'est à dire de répartition des risques lorsque la durée de saison est variable par exemple (King & Roughgarden 1982 ; Taylor & Gabriel 1992). Une croissance indéterminée peut aussi évoluer si le coût associé à une augmentation de l'investissement reproducteur diminue lorsque la taille de l'individu augmente (Heino & Kaitala 1996). Augmenter la taille adulte permet de réduire les coûts associés à la reproduction et donc d'avoir une reproduction plus forte sans en augmenter le coût. La croissance post-maturation peut aussi avoir des contraintes structurelles sur le développement du système reproducteur qui limitent l'investissement dans la reproduction ; le surplus d'énergie disponible est alors dirigé vers d'autres fonctions telles que la croissance (Kozlowski 1992). Inversement, une contrainte structurelle limitant la croissance - telle que, par exemple, l'absence de coquille de grande taille dans lesquelles se logent les Bernard l'Hermite (Bertness 1981) - peut forcer l'augmentation de l'investissement de ressources dans la reproduction. Des modèles mettant en jeu des compromis non linéaires entre traits ou des dépendances de la fécondité et de la mortalité à la taille corporelle, ont aussi été proposés.

Les théories sur l'allocation de ressources entre croissance et reproduction demeurent très largement en manque de vérifications expérimentales (mais voir Perrin 1989 ; Heino & Kaitala 1999). C'est une lacune qu'il est essentiel de combler.

Étant donné le lien fort qui existe conceptuellement entre trajectoire de croissance et stratégie de maturation optimale, l'étude de l'évolution des stratégies de maturation devrait être intégrée à celle de l'évolution des trajectoires de croissance, que néglige pourtant la majorité des modèles, les variations de trajectoire de croissance étant attribuées à des variations de conditions environnementales. Les mesures d'héritabilité des paramètres de croissance corporelle sont très rares mais indiquent néanmoins que la forme des trajectoires peut évoluer (Grossman & Bohren 1985 ; Gebhardthenrich & Marks 1993 ; Akbas & Yaylak 2000 ; Dries, Morris et al. 2001).

A II Objectifs de l'étude

Notre travail a pour objectif d'étudier le déterminisme génétique, environnemental et maternel de la croissance et de la maturation.

○ **Trajectoires de croissance**

- De quelle manière la quantité de ressource disponible affecte-elle la croissance des individus et leur taille adulte ?
- Les clones diffèrent-ils par leur trajectoire de croissance et notamment par leur taille adulte et la dynamique de croissance jusqu'à cette taille adulte (forme de la courbe de croissance) ?

Nous nous proposons de mesurer précisément les trajectoires individuelles de croissance corporelle afin de pouvoir quantifier la variabilité des paramètres de ces trajectoires. Nous étudierons la plasticité de ces paramètres en fonction des conditions environnementales (régime de nourrissage) mais aussi leur variabilité au sein de chaque environnement et leur déterminisme génétique.

○ **Maturation**

- De quelle manière la quantité de ressources disponible affecte-elle l'âge, la longueur et la fécondité à maturité ?
- L'âge, la longueur et la fécondité à maturité varient-ils entre clones ?
- Les tailles à maturité diffèrent-elles (1) en fonction des conditions environnementales (2) entre individus dans un même environnement ?
- Quelles sont les parts (1) génétique, (2) environnementale dans ces différences ?

Nous étudierons les paramètres de la transition que représente la maturation en nous intéressant à l'âge et à la taille à maturité mais aussi à la fécondité à maturité ainsi qu'à la taille des œufs produits lors de la première ponte.

De même que pour les paramètres de croissance, nous tâcherons de quantifier la plasticité de ces paramètres, leur déterminisme génétique et les corrélations phénotypiques et génétiques qui s'établissent entre eux.

○ **Effets maternels**

Nous étudierons l'influence potentielle d'effets maternels sur les paramètres de la croissance et de la maturation. Plus précisément :

- La taille des œufs a-t-elle un effet sur les profils de croissance ? Si oui, sur quels paramètres des trajectoires de croissance ces effets maternels agissent-ils ? Ces effets varient-ils entre environnements ?
- De même, âge, taille et fécondité à maturité sont-ils dépendants des caractéristiques de la ponte dont les individus sont issus ?
- Ces effets maternels potentiels dépendent-ils des conditions environnementales ?
- Quelle relation peut-on faire entre ces effets maternels et les effets génétiques mis en évidence ?

○ Croissance et maturation

Nous mettrons en relation le processus de maturation avec la trajectoire de croissance suivie par les collemboles. Nous rechercherons si augmenter sa taille à maturité se fait en (1) augmentant la vitesse de croissance ou (2) augmentant la durée de développement (âge à maturité), ou bien en augmentant les deux. Ceci nous amènera à préciser la forme de la norme de réaction pour l'âge et la taille à maturité et à étudier l'existence d'une variabilité génétique affectant cette norme de réaction.

○ Quelles causalités dans le processus de maturation ?

Enfin nous nous intéresserons au réseau de relations existant entre âge, longueur et fécondité à maturité. Ces trois paramètres dépendent évidemment de caractéristiques de la trajectoire de croissance parcourue par chaque collembole. Mais ne dépendent-ils seulement que d'icelles ? Où pour une trajectoire de croissance donnée, quel est le degré de variation de ces traits ? Et comment covarient-ils ?

La fécondité à maturité est-elle uniquement déterminée par la longueur à maturité ou bien l'âge à maturité exerce-t-il aussi une influence directe sur ce trait ? Peut-on savoir si l'âge à maturité est plus ou moins contrôlé par la longueur à maturité ou bien si c'est l'âge à maturité qui détermine la taille à maturité ? À moins qu'aucun des deux traits n'ait d'influence directe sur l'autre, leur covariation résultant simplement d'une liaison avec des paramètres communs de la trajectoire de croissance.

Enfin, les effets génétiques, environnementaux et maternels influençant le processus de maturation ont-ils quelque effet direct sur les processus de maturation ou bien leur influence n'est-elle qu'indirecte via leur influence sur les paramètres des trajectoires de croissance (Figure 26) ?

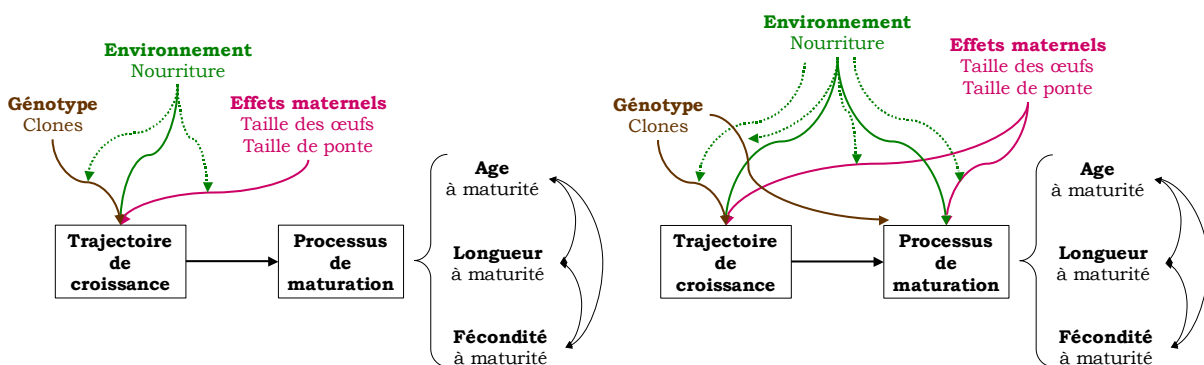


Figure 26 Deux schémas de relations de causalités entre environnements, effets maternels et génétiques sur la croissance et la maturation. Les effets génétiques, maternels et environnementaux peuvent influencer le processus de maturation indirectement seulement via leurs effets sur les trajectoires de croissance (gauche) ou via des effets supplémentaires directs (droite).

B Matériel et méthodes

B I Protocole expérimental

Notre protocole expérimental vise à mesurer les effets génétiques, maternels et environnementaux sur les stratégies de maturation.

B I 1) Contrôle des effets maternels

Nous avons dans un premier temps isolé pour chacun des onze clones (cf. Chapitre 2E) 10 jeunes adultes provenant pour chaque clone de plusieurs boîtes d'élevage différentes. Ces femelles ont été conservées seules dans des conditions d'humidité ($\sim 100\%HR$), de température ($21 \pm 0.1^\circ C$) et d'éclairage (12h/12h) standardisées (cf. Figure 12). De plus, de la nourriture (Figure 14) leur a été fournie en permanence. Le but de cette première phase est de réduire et de contrôler (en mesurant différentes variables) d'éventuels effets maternels. L'étude des données de reproduction de ces

femelles (nombre et taille des œufs pondus) est détaillée plus tard (Chapitre 4). Pour chacun des onze clones, nous avons ensuite prélevé 10 couples de sœurs provenant en moyenne de 8 pontes différentes, pondues par autant de mères différentes au cours de leur deuxième semaine d'isolement (nombre de pontes différentes par clones AP : 6 ; BR : 7 ; BV : 4¹⁷ ; DK : 10 ; GB : 7 ; GM : 10 ; HA : 5 ; PB : 9 ; TO : 10 ; US : 10 ; WI : 8).

Ce protocole d'échantillonnage permet ainsi de ne pas confondre un effet clone avec un effet mère, ni même avec un effet boîte ou population d'origine puisque pour chaque clone, les individus proviennent de plusieurs mères, elles-mêmes issues de plusieurs boîtes d'élevage.

D'autre part, si ce protocole ne nous donne que peu de puissance pour détecter d'éventuels effets mère (car nous avons peu de réplifications de jeunes femelles par mère), il nous permet d'avoir accès à des covariables maternelles telles que la **longueur de la mère** lors de la ponte, la **taille de la ponte d'origine** (nombre d'œufs) ou enfin la **taille moyenne des œufs** dont sont éclos les femelles suivies.

B I 2) Traitement de nourrissage

Toutes les jeunes femelles isolées juste après leur naissance ont été placées seules dans des boîtes d'élevage et maintenues tout au long de l'expérience dans des conditions standards similaires à celles de leur mère (100%HR, 21°C, lumière : 12h:12h), la seule différence concernant le régime de nourriture. Nous avons en effet appliqué deux traitements de **disponibilité de nourriture** : pour chaque couple de sœurs, l'une d'entre elle a été maintenue dans une boîte dans laquelle était présente une pastille de nourriture en permanence tout au long de sa vie (traitement « + » ou « **haute nourriture** » ou « **ad libitum** ») alors que pour l'autre une pastille de nourriture n'était présente dans la boîte que 24 heures consécutives par semaine. Après cette période de 24h la pastille était enlevée et le collembole contraint de jeûner pendant 6 jours (traitement « - » ou « **faible nourriture** » ou « **restriction calorique** »). La nourriture est renouvelée lors de l'inspection régulière des boîtes. Après chaque inspection la place des boîtes dans les incubateurs était modifiée.

B I 3) Mesure de l'âge

Grâce à l'inspection bijournalière des boîtes des mères il a été possible de mesurer avec précision (cf. Chapitre 2B II 2) la date de ponte et d'éclosion de chacune des pontes à partir desquelles les femelles étudiées ont été prélevées. Nous connaissons ainsi précisément, la **durée de développement**, la **date de naissance** et l'**âge** de chacune des 220 femelles au cours du suivi attentif dont elles ont été l'objet pendant l'ensemble de leur durée de vie (jusqu'à 571 jours, record mesuré chez cette espèce, cf. Chapitre 5).

B I 4) Mesures de croissance corporelle

La taille à la naissance a été estimée en prenant la moyenne de la taille mesurée des jeunes nouveaux-nés¹⁸ de la ponte dont chaque femelle étudiée est issue. Puis, après son isolement, chaque femelle a été mesurée individuellement tout au long de sa vie en prenant une fois par semaine une photographie numérique de chacune d'elles (cf. Chapitre 2D I pour le protocole précis). Une mesure supplémentaire a été effectuée après la première ponte.

B I 5) Mesures de maturation

Afin d'estimer avec précision l'âge à maturité, les boîtes d'élevage ont été inspectées deux fois par jour (le matin et le soir) jusqu'à ce que la plupart des femelles aient pondu leur première ponte (~25 jours). Après quoi les inspections n'étaient plus que journalières pendant un mois puis tous les deux à trois jours les deux mois suivants, et enfin deux fois par semaine jusqu'à la fin de l'expérience.

¹⁷ Le faible nombre de femelles du clone BV ayant pondu nous a contraint à prélever les 10 couples de sœurs issues de seulement quatre pontes différentes.

¹⁸ On appelle nouveau-né, un collembole au cours des 24h qui suivent son éclosion.

B I 6) Mesures des caractéristiques de la reproduction

Lors de chaque inspection de boîte, l'état du collembole (mort ou vivant) est noté et des pontes sont recherchées dans la boîte. Lorsqu'une ponte est trouvée, le nombre d'œufs est compté. Si la ponte est assez fraîche (<3 jours), une photographie numérique des œufs est effectuée afin de mesurer par la suite la taille des œufs (Chapitre 2D II). La ponte est enfin laissée 3 à 4 jours dans la boîte afin de pouvoir mesurer le nombre d'œufs ne se développant pas avant (Chapitre 2D II et Figure 19), puis les œufs sont retirés de la boîte. L'état de la ponte (couleur) est utilisé pour estimer un intervalle de temps au cours duquel la ponte a probablement été pondue. Le milieu de cet intervalle est associé à l'événement de ponte.

B II Analyses statistiques

B II 1) Développement embryonnaire

Éclorre c'est un peu comme mourir. Tout du moins du point de vue du processus statistique sous-jacent. C'est pourquoi les données de durée de développement embryonnaire des œufs ont été analysées comme des données de survie au moyen d'un modèle de Cox (Muenchow 1986 ; Therneau & Grambsch 2000 ; Dixon 2001).

B II 2) Croissance

B II 2 a) Modèle de croissance

Les suivis individuels ont permis d'effectuer un total de 4178 mesures de taille soit en moyenne 19 mesures de taille par individu. Ces données permettent de mesurer finement les trajectoires de croissance des 220 femelles étudiées (Chapitre 7A I).

Les trajectoires de croissance ont été modélisées à l'aide d'un modèle logistique simple:

$$y(x) = c_1 / (1 + \exp[(c_2 - x) / c_3])$$

dont les variables et paramètres sont ainsi définis :

$y(x)$: longueur du collembole à l'âge x .

c_1 : Taille adulte asymptotique ($\text{âge} \rightarrow +\infty$).

c_2 : Valeur de l'âge pour le point d'inflexion de la courbe (quand la taille est égale à la moitié de la taille adulte).

c_3 : Paramètre d'échelle: lorsque que le collembole est âgé de $c_2 + c_3$ jours, sa taille vaut environ les trois quart de la taille adulte (75%). Plus ce paramètre est petit, plus la vitesse de croissance est grande.

L'ajustement du modèle reposait sur la procédure *SSlogit* du paquet "*lme*" de R (Pinheiro & Bates 2000).

B II 2 b) Stratégies de modélisation

La modélisation des courbes de croissances s'est faite de deux manières :

- Une analyse globale de la croissance des individus fut tentée afin d'étudier les effets génétiques, environnementaux et maternels sur la trajectoire de croissance de nos femelles. Cette analyse consiste à ajuster à l'ensemble des données de croissance un modèle mixte non linéaire multi-niveaux logistique (fonction *nlme* de la librairie *nlme* de R, avec le constructeur *SSlogit*). Cette approche permet, au travers d'un seul modèle, de rechercher l'effet du traitement et des effets maternels (effets fixes) sur les paramètres de croissance tout en mesurant les effets aléatoires nichés associés : effet clone et effet individu au sein de chaque clone. Il est possible avec cette approche de rechercher, mesurer, et tenir compte d'éventuelles interactions entre effets fixes et effets aléatoires sur chacun des paramètres de croissance estimés (variabilité génétique sur

l'effet du traitement). Enfin nous pouvons rechercher, mesurer et tenir compte de différentes formes d'hétéroscédasticité.

- Une seconde approche, moins puissante, consiste à estimer pour tous les individus ayant survécu assez longtemps pour atteindre une taille proche de leur taille adulte (nb=198), les 3 paramètres de la courbe de croissance logistique. Ces paramètres peuvent ensuite être eux-mêmes analysés ou intégrés comme covariables à d'autres analyses statistiques (Figure 27).

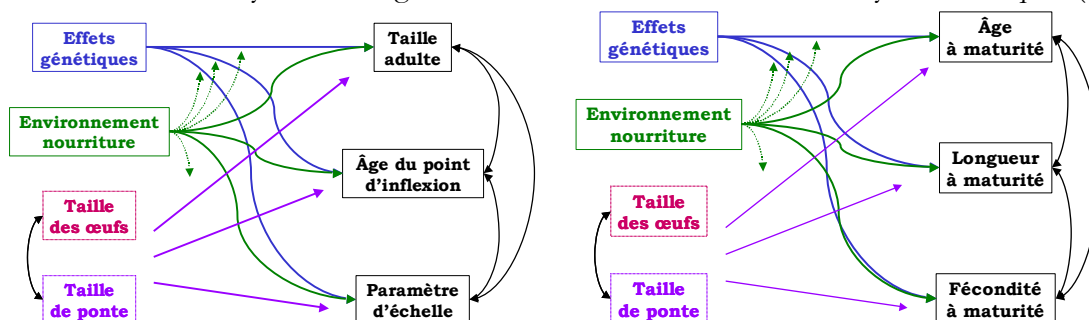


Figure 27 Facteurs susceptibles d'influencer les paramètres des trajectoires de croissance (gauche) et du processus de maturation (droite).

B II 2 c) Effets fixes

Dans ces analyses, les trois paramètres de la trajectoire de croissance ont été modélisés en fonction des effets fixes que sont le **régime de nourrissage** appliqué et les effets maternels que nous avons pu contrôler. Pour la plupart des individus nous connaissons quatre covariables maternelles : la **taille de la mère** lorsqu'elle a déposé la ponte dont le collembole est issu, le **nombre d'œufs** ainsi que la **taille moyenne des œufs** de cette ponte. Étant donné que ces variables ne sont pas indépendantes (nombre et taille des œufs sont corrélés à la longueur de la mère cf. Figure 61), nous n'avons considéré que les effets maternels que sont la taille de ponte et la taille moyenne des œufs.

B II 2 d) Effets aléatoires

Afin d'étudier l'existence d'une variabilité génétique sur les paramètres de la courbe de croissance, l'effet clone a été introduit dans les modèles comme effet aléatoire. L'hérédité de la plasticité des paramètres a été testée en plaçant un effet régime de nourrissage niché dans l'effet clone dans la partie aléatoire du modèle (Pinheiro & Bates 2000).

B II 3) Processus de maturation

Étudier la transition, dans le cycle de vie, que représente la maturation n'est pas chose aisée car l'évènement de maturation est associé à plusieurs variables intimement liées : **âge**, **taille corporelle** (et éventuellement, corpulence) et **effort de reproduction** à la maturité (nombre d'œuf pondus, taille des œufs, qualité des œufs...). Les méthodes statistiques classiques permettant d'analyser ce type de données d'une manière unique n'existent pas encore selon nos connaissances¹⁹. La difficulté d'analyse de ce type de données provient notamment du fait que les trois variables analysées sont étroitement liées les unes aux autres et ne peuvent être manipulées séparément. En effet, si nous pouvons manipuler l'environnement (nourriture), contrôler les effets génétiques et randomiser ou contrôler des effets maternels, il est en revanche impossible de manipuler ou randomiser les facteurs tels que l'âge ou la longueur à maturité lorsqu'on analyse respectivement la longueur ou la fécondité à la maturité. Nous pouvons seulement les contrôler sans minimiser les corrélations entre variables. Dans ce type de schéma il est impossible d'utiliser la méthode d'expérimentation randomisée popularisée par Fisher (Fisher 1926) pour étudier les relations de cause à effet.

¹⁹ Une approche de type MANOVA a été tentée pour analyser conjointement, âge, taille et fécondité mais les hypothèses supposées du modèle étaient violées.

Nous avons donc procédé à une étude en trois étapes.

B II 3 a) Analyses séparées

Nous avons tout d'abord analysé séparément les trois variables en fonction des effets fixes que sont le régime de nourrissage et les effets maternels, et des effets aléatoires que sont l'effet clone et une interaction clone*nourriture pour étudier l'héritabilité de la plasticité (Figure 27).

B II 3 b) Modèles d'équations structurées

Afin d'étudier la structure des interdépendances entre les trois traits de maturation et les paramètres des courbes de croissance mesurés, nous avons utilisé les techniques statistiques des modèles d'équations structurées « Structural Equation Modelling » (SEM, cf. Chapitre 1C IV, page 24) (Bollen 1989) qui permettent de représenter des relations causales supposées entre variables. Les techniques d'analyse de chemin ou de « path analysis » font partie de ce corpus d'approches (Mitchell 2001) et sont de plus en plus utilisées en écologie évolutive (Scheiner & Callahan 1999 ; Crnokrkn & Roff 2000 ; Scheiner, Mitchell et al. 2000). Ces techniques ne permettant pas d'intégrer aisément des variables catégorielles (Bollen 1989), nous n'avons pas tenu compte de l'effet d'appartenance à un clone ni du régime de nourrissage. Nous avons donc étudié séparément les relations entre les différentes variables pour les deux régimes de nourriture sans tenir compte des différences entre clones. Nous avons considéré dans ces analyses que le processus de maturation est déterminé de manière primordiale par la trajectoire de croissance suivie par un collembole. De plus, nous nous sommes basés sur le schéma logique d'organisation des variables du processus de maturation qui est que la fécondité à maturité est une résultante de la longueur et de l'âge à maturité. Nous avons considéré aussi bien que l'âge à maturité puisse déterminer la longueur, ou bien que ce soit la longueur qui détermine l'âge (Figure 28). Pour chacun des deux régimes de nourriture, nous avons comparé un ensemble de modèles basés sur les schémas de la Figure 28 et sélectionné les meilleurs en nous basant sur un critère robuste d'information de Aikake (Consistent Akaike's information criterion, CAIC) (Diamantopoulos & Sigauw 2000).

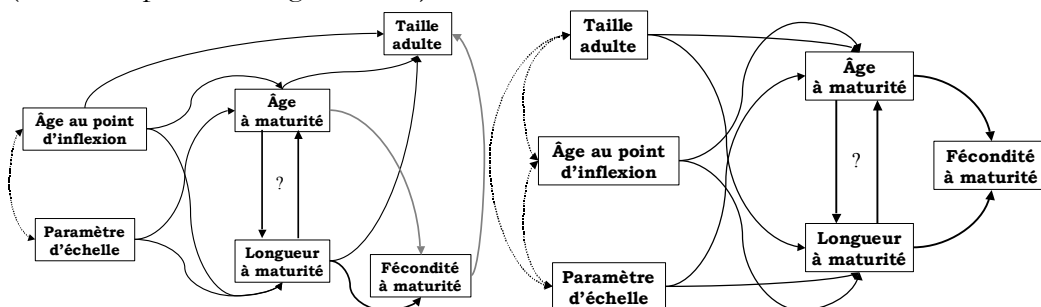


Figure 28 Schémas hypothétiques de causalités possibles entre les paramètres décrivant les trajectoires de croissance corporelle et les paramètres du processus de maturation. Par souci de clarté, les interactions entre génotype, environnement et effets maternels ne sont pas représentées.

B II 3 c) La maturation comme un processus stochastique

Les paramètres d'âge et de taille vont augmenter au cours de la croissance du juvénile et la maturation peut être interprétée comme le franchissement d'une norme de réaction de maturation par la trajectoire de croissance. Cette norme de réaction n'est en fait pas une ligne mais plutôt une zone relativement floue au cours de laquelle la probabilité de devenir mature augmente (Heino, Dieckmann et al. 2002 ; Olsen, Heino et al. 2004). Une manière d'étudier le phénomène de maturation consiste donc à modéliser cette norme de réaction probabiliste. Nous avons développé une nouvelle méthode permettant de modéliser ce type de transition probabiliste basée sur l'analyse de données constituées par des mesures répétées de taille, d'âge et de statut de maturation, prises à des instants d'observations éventuellement variables.

C Résultats

C I Développement des œufs

Une analyse de survie (modèle de Cox, cf. Chapitre 1C I) a été utilisée pour modéliser la durée de développement des œufs en fonction du **volume** moyen des œufs, de la **taille de ponte** et du facteur **clone**.

La durée moyenne de développement des œufs à 21°C est de **9.48 jours** (se=0.049, Figure 29). Cette durée dépend d'une interaction entre taille de ponte et surface des œufs ($\chi^2=21.2$, $P<0.0001$) : les pontes qui sont à la fois nombreuses et constituées d'œufs gros se développent plus lentement. En revanche il n'existe pas d'effet simple ni du volume ($\chi^2_1=0.83$, $P=0.36$), ni du nombre d'œufs produits ($\chi^2_1=0.16$, $P=0.69$).

Globalement, ce trait n'est pas héritable ($\chi^2_1=2.2$, $P=0.136$) bien que la durée de développement diffère entre les clones ($\chi^2_{10}=26.51$, $P=0.0031$) mais cet effet n'est dû qu'au clone GB qui a une durée de développement des œufs plus grande que l'ensemble des autres clones (Figure 29).

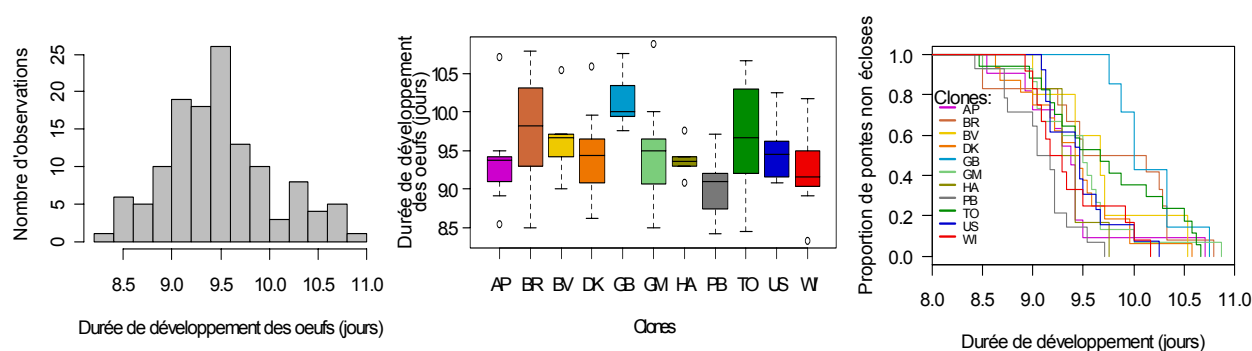


Figure 29 Durées de développement des œufs mesurées sur 129 pontes : histogramme des durées de développement en jours (gauche); boîtes à moustaches pour chaque clone (centre) ; pour chaque clones, durées de développement représentées sous la forme de "courbes de survies" (droite).

C II Trajectoires de croissance

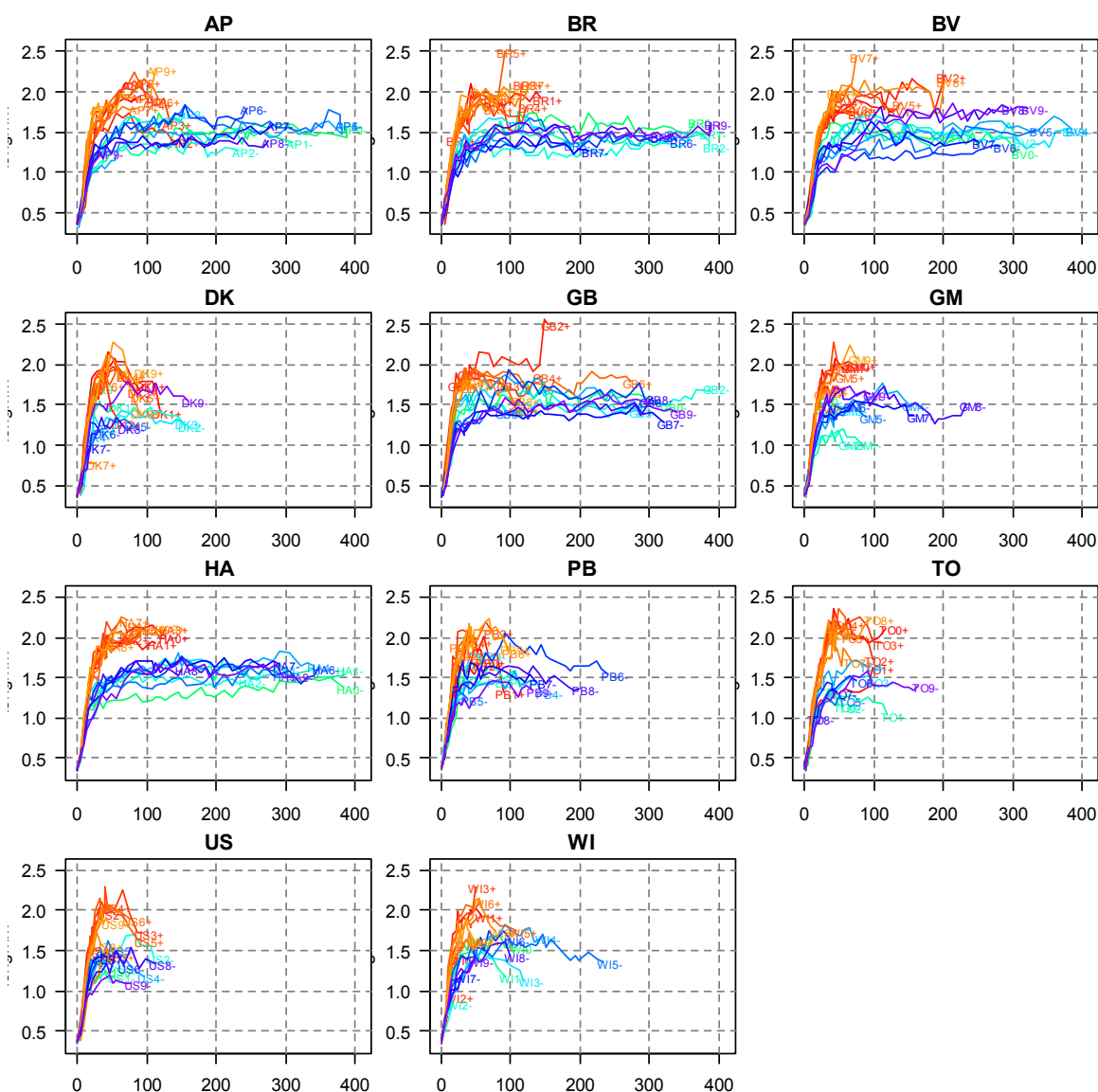


Figure 30 Courbes de croissance des 220 individus suivis. En abscisse, l'âge des collemboles (jours) et en ordonnée, leur taille (mm). En bleu, les collemboles en régime de restriction calorique et en rouge ceux en nourriture *ad libitum*.

C II 1) Estimation des paramètres des courbes de croissance

À cause de problèmes de convergence, il n'a malheureusement pas été possible d'adopter la stratégie d'analyse unique que nous avions envisagé de mener. Nous avons dû nous contenter d'estimer les paramètres de croissance individuellement pour chacun des collemboles, paramètres que nous avons analysés ensuite. Pour 198 individus, les données de croissance étaient suffisantes pour pouvoir ajuster un modèle de croissance individuelle et estimer pour chaque individu les paramètres de la courbe de croissance (Figure 30 et Figure 31). Les autres individus sont morts ou ont été perdus avant d'atteindre leur taille adulte.

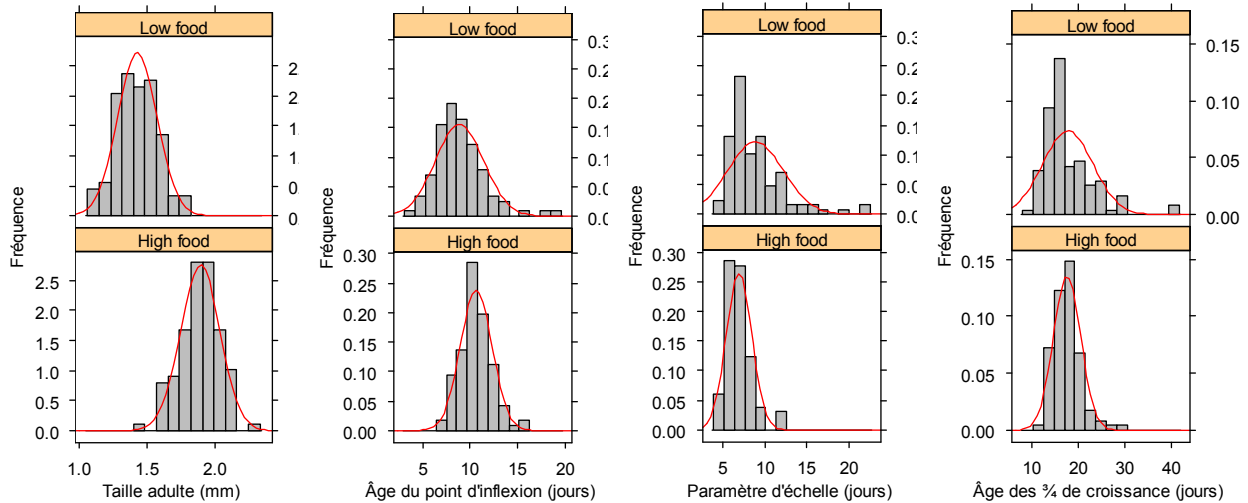


Figure 31 Distribution des tailles adultes, d'âge au point d'inflexion, du paramètre d'échelle et de l'âge au 3/4 de croissance entre les deux environnements de nourriture.

Dans la plupart des cas, le modèle de croissance logistique s'ajuste correctement aux données (Figure 32 A). La taille asymptotique estimée par l'ajustement du modèle aux données de croissance individuelle est très corrélée ($\text{cor}=0.98$) à la taille adulte que l'on peut mesurer comme la moyenne pour chaque individu des mesures de tailles effectuées après 30 jours (Figure 32 B). Si cette méthode (courbe de croissance logistique) n'est pas parfaite, elle présente un bon compromis entre un nombre réduit de paramètres décrivant la courbe et de bonnes propriétés de convergence. Si l'on ajuste un modèle logistique à quatre paramètres²⁰ aux données, il n'est alors possible d'estimer ces paramètres que pour 124 individus. Si, dans ce modèle, les données de taille semblent mieux correspondre aux données moyennes mesurées ($\text{cor}=0.988$) il faut y voir la seule conséquence d'une corrélation qui n'est établie que sur un nombre moins important d'individus dont les données de croissance correspondent particulièrement bien à ce modèle.

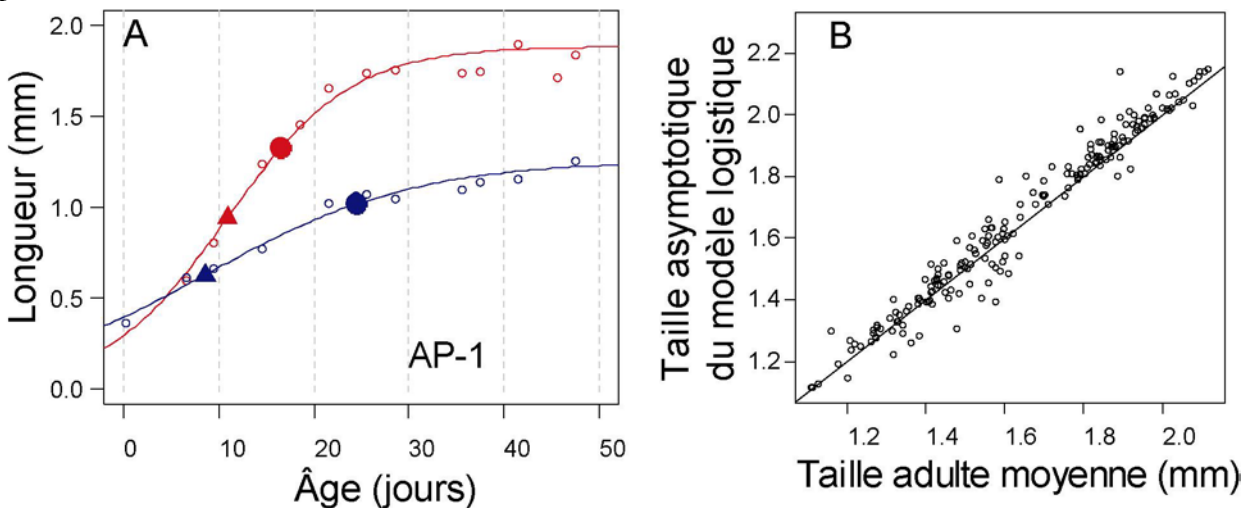


Figure 32 Adéquation du modèle de croissance logistique aux données. A) Représentation des données de longueur corporelle mesurées (cercles ouverts) pour un couple de sœurs du clone AP soumis aux deux régimes de nourriture. Les courbes de croissance logistique ajustées sont représentées en trait continu avec le point d'inflexion (triangle) et l'âge et la taille prédits à maturation (cercles pleins). B) Comparaison entre la taille asymptotique estimée par l'ajustement d'un modèle de croissance logistique aux données et la taille adulte moyenne calculée sur les collemboles âgés de plus de 30 jours. La droite tracée est la bissectrice $y=x$.

²⁰ $\text{longueur}(\text{age}) = \text{long}_{\text{adulte}} + (\text{long}_{\text{inf}} - \text{long}_{\text{adulte}}) / (1 + \exp[(\text{age}_{\text{inf}} - \text{age}) / \text{paramètre d'échelle}])$

C II 2) Analyse des paramètres des courbes de croissance

Les paramètres estimés ont ensuite été analysés.

C II 2 a) Effet du régime de nourrissage

○ Moyenne

Dans l'environnement à forte disponibilité en ressources alimentaires, les collemboles atteignent une **longueur asymptotique** plus grande que lorsque la nourriture est rare ($\chi^2_1=270$, $P<0.0001$). Ils passent d'une taille adulte de 1.43mm (SE= 0.0169) en moyenne à 1.89mm (SE= 0.0169) en nourriture non limitante ce qui représente une augmentation de +32% (Figure 31 et Figure 33).

L'âge au point d'inflexion augmente aussi lorsque la nourriture est non limitante ($\chi^2_1=34.4$, $P<0.0001$), passant en moyenne de 8.85 jours (SE= 0.308) à 10.62 jours (SE= 0.307) soit une augmentation de +20% (Figure 31 et Figure 33).

Enfin, le **paramètre d'échelle** est, quant à lui, réduit lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=31.7$, $P<0.0001$). Il passe en moyenne de 8.91 jours (SE=0.338) en nourriture rare à 6.97 jours (SE=0.337) en nourriture abondante soit une réduction de 22% (Figure 31 et Figure 33).

Par définition, la somme du paramètre d'échelle et de l'âge au point d'inflexion correspond à l'âge auquel l'individu atteint 73% de sa longueur asymptotique (Pinheiro & Bates 2000). Sur la Figure 33, on peut remarquer que cet âge semble identique entre les deux environnements. Nous avons donc complété nos analyses en étudiant cet âge correspondant à environ $\frac{3}{4}$ de la croissance. Une analyse menée sur l'ensemble des individus montre qu'il n'est pas influencé par le régime de nourriture ($\chi^2_1=0.082$, $P=0.77$) et vaut en moyenne 17.68 jours (SE=0.54) (Figure 35).

○ Variance

La variance phénotypique intra-clone concernant la **longueur asymptotique** n'est pas affectée par le régime de nourriture ($\chi^2_1=0.06$, $P=0.80$).

La variance phénotypique intra-clone de **l'âge au point d'inflexion** est réduite lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=21.42$, $P<0.0001$) et ne vaut en moyenne que 62% de la variance dans l'environnement à nourriture rare (Figure 31).

La variance phénotypique intra-clone du **paramètre d'échelle** est aussi réduite lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=66.7$, $P<0.0001$) et ne vaut en moyenne que 41% de la variance dans l'environnement à nourriture rare (Figure 31).

La variance intra-clone de **l'âge aux $\frac{3}{4}$ de la taille adulte** diminue aussi lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=47.7$, $P<0.0001$) et ne vaut plus que 49% de la variance en environnement à nourriture rare.

Tableau 5 Effet du régime de nourriture sur les moyennes et les variances des caractéristiques de la croissance. La variance relative du trait dans l'environnement à nourriture abondante par rapport à la variance du trait en nourriture rare est figurée.

Variable	Moyenne					Variance		
	Nourr. rare	Nour. abond.	Chang ^t	χ^2_1	P	abond./rare	χ^2_1	P
longueur asymptotique	1.43	1.89	+32%	270	<0.0001	ns	0.06	0.80
âge au point d'inflexion (jours)	8.85	10.62	+20%	34.4	<0.0001	0.62	21.42	<.0001
paramètre d'échelle (jours)	8.91	6.97	-22%	84.1	<0.0001	0.41	66.7	<.0001
âge aux $\frac{3}{4}$ de la taille adulte (jours)	17.76	17.60	ns	0.082	0.77	0.49	43.7	<.0001

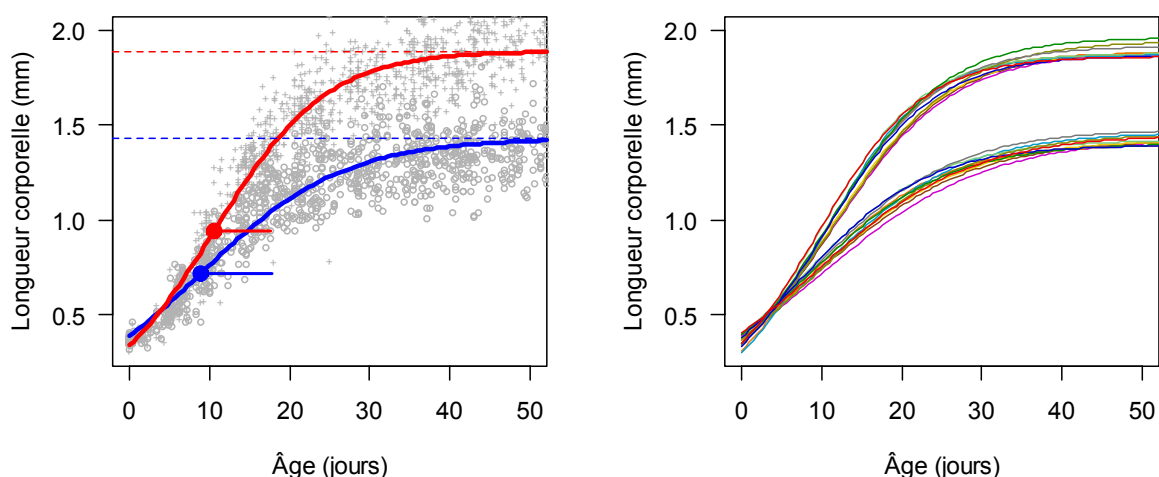


Figure 33 Courbes de croissance prédites. À gauche, courbe moyenne pour l'ensemble des clones dans les deux environnements, à faible nourriture en bleu (mesures de tailles en "o" gris) et à haute nourriture en rouge (mesures de taille en "+" gris). Les points sur les courbes représentent l'âge au point d'inflexion, le segment à sa droite représente le paramètre d'échelle. Les lignes horizontales représentent la taille asymptotique prédite. À droite sont représentées les courbes de croissance prédites pour chacun des 11 clones dans les deux environnements. Les couleurs sont celles utilisées tout au long du document pour identifier chaque clone (cf. Chapitre 2E I).

C II 2 b) Effets maternels

○ Effets mère

Aucune corrélation entre les valeurs d'individus provenant de la même mère n'a été mise en évidence pour la longueur à maturité ($\chi^2_1=0.72$, $P=0.39$), le paramètre d'échelle ($\chi^2_1=2.41$, $P=0.12$) ou pour l'âge aux $\frac{3}{4}$ de croissance ($\chi^2_1=3.0$, $P=0.08$). En revanche une structuration de la variance de l'âge au point d'inflexion selon un effet mère est détectée ($\chi^2_1=6.18$, $P=0.01$).

○ Covariables maternelles

La **longueur asymptotique** n'est pas influencée par la taille moyenne des œufs de la ponte dont l'individu est issu ($\chi^2_1=0.84$, $P=0.36$) mais par une interaction entre le régime de nourrissage et la taille de ponte dont l'individu est issu ($\chi^2_1=7.90$, $P=0.0049$). Alors que, lorsque la nourriture est rare, il n'y a pas d'effet de la taille de ponte sur la longueur asymptotique ($\chi^2_1=2.02$, $P=0.15$), celle-ci diminue avec la taille de ponte en présence de nourriture abondante ($\chi^2_1=6.40$, $P=0.01$, Figure 34).

L'âge au point d'inflexion n'est pas influencé par la taille de la ponte ($\chi^2_1=1.94$, $P=0.163$) mais il est d'autant plus réduit que la taille moyenne des œufs est grande ($\chi^2_1=9.58$, $P=0.002$, Figure 34).

Le **paramètre d'échelle** n'est pas influencé par la taille moyenne des œufs ($\chi^2_1=2.64$, $P=0.104$) et tend à diminuer avec la taille de ponte ($\chi^2_1=4.38$, $P=0.04$, Figure 34) mais cet effet ne persiste pas si la covariable *surface des œufs* est ôtée du modèle ($\chi^2_1=3.01$, $P=0.082$).

La somme des deux paramètres précédents est aussi fortement influencée par la taille moyenne des œufs ($\chi^2_1=14.6$, $P=0.0001$) : les collemboles issus de gros œufs atteignent plus rapidement les $\frac{3}{4}$ de leur taille adulte.

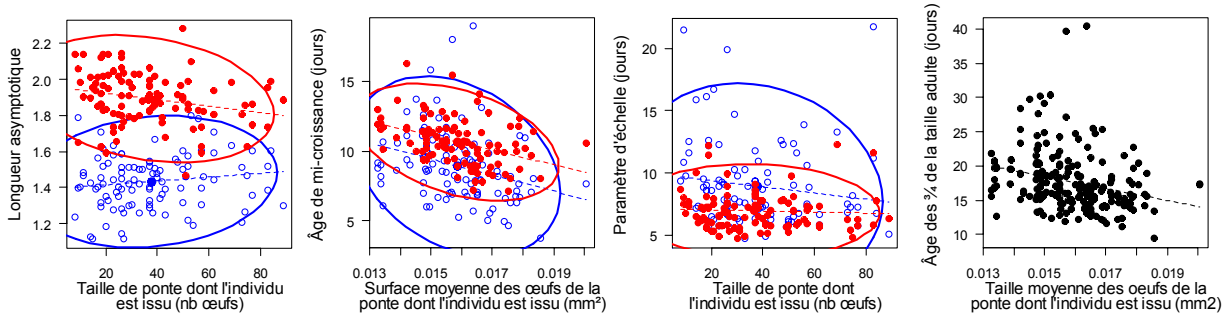


Figure 34 Effets maternels sur les paramètres des trajectoires de croissance.

C II 2 c) Effets génétiques

○ Plasticité

La plasticité d'aucun des quatre paramètres n'est héritable ($\chi^2_1 < 1.72$, $P > 0.18$, Tableau 6 et Figure 35).

○ Héritabilité

Lorsque la nourriture est rare, seul l'âge au point d'inflexion présente une variabilité génétique significative ($P = 0.033$, $h^2 = 22$) alors qu'en présence de nourriture les quatre paramètres sont héritables ($P < 0.045$). Les héritabilités de l'âge au point d'inflexion et du paramètre d'échelle sont plus grandes ($h^2 \sim 30\%$) que celle de la taille adulte asymptotique ($h^2 = 20\%$). Les courbes prédites pour chacun des clones sont représentées sur la Figure 33.

Il est à noter que lorsque l'effet "taille des œufs" est pris en compte comme effet fixe dans la modélisation de l'âge au point d'inflexion et de l'âge aux $3/4$ de la taille adulte, la variance génétique n'est plus significative dans aucun des deux régimes ($\chi^2_1 < 1.59$, $P > 0.20$) ce qui signifie que la variance génétique détectée est en fait en grande partie liée à la variance génétique portant sur la taille moyenne des œufs ($h^2 = 46\%$, Figure 36).

L'augmentation de la valeur mesurée d'héritabilité de l'âge au point d'inflexion et du paramètre d'échelle et de leur somme lorsque la nourriture est abondante est en partie due au fait que la variance intra-clone de ces deux traits diminue lorsque la nourriture est abondante (cf. Chapitre 3C II 2 a)). Ceci peut expliquer le fait que l'on observe une augmentation de l'héritabilité des traits en nourriture abondante sans détecter de variabilité génétique sur la plasticité.

○ Variabilité

Nous avons vu que le niveau de variabilité intra-clone du paramètre d'échelle et du point d'inflexion est réduit dans l'environnement à haute nourriture. Cette variance inter-individus est-elle différente d'un clone à l'autre ? C'est le cas pour la taille asymptotique ($\chi^2_{10} = 19.8$, $P = 0.03$) et pour le paramètre d'échelle ($\chi^2_{10} = 36.8$, $P = 0.0001$). En revanche la variance intra-clone du point d'inflexion ne varie pas significativement entre clones ($\chi^2_{10} = 17.55$, $P = 0.06$). Les valeurs relatives des variances par rapport au clone AP sont présentées sur la Figure 38.

Tableau 6 Héritabilité de la plasticité et de la valeur des trois paramètres des trajectoires de croissance dans les deux environnements. Les valeurs des héritabilités significativement différentes de zéro ou proche de la signification sont indiquées avec les intervalles de confiances à 95% associés.

Variable	Plasticité Test (ddl=1)	h ² (%)		Nourriture rare	h ² (%)		Nourriture abondante	h ² (%)	
		Médiane	IC 95%		Médiane	IC 95%		Médiane	IC 95%
Longueur asymptotique	$\chi^2 = 1.72$, $P = 0.18$	14.0	0.0-19.2	$\chi^2 = 0.93$, $P = .33$	15.0	1.46-31.7	$\chi^2 = 3.99$, $P = .045$	20.3	0.3-40.4

Âge au point d'inflexion	$\chi^2=1.11$, P=0.29	12.9	0.6- 28.8	$\chi^2=4.55$, P=.033	22.0	6.7- 38.6	$\chi^2=11.29$, P=.0008	30.3	10.0- 48.3
Paramètre d'échelle	$\chi^2=0.13$, P=0.72	9.4	0.0- 25.8	$\chi^2=1.83$, P=.176	15.7	2.44- 35.3	$\chi^2=13.3$, P=.0003	32.1	14.8- 49.7
Âge de $\frac{3}{4}$ de taille adulte	$\chi^2=0.66$, P=0.42	3.7		$\chi^2=3.01$, P=.08	11.4		$\chi^2=13.5$, P=.0002	26.1	

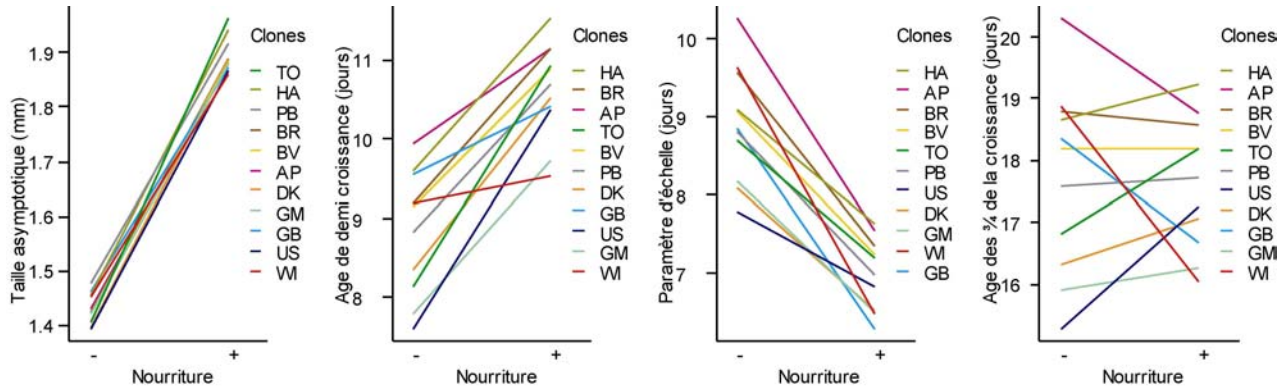


Figure 35 Normes de réaction des trois paramètres des trajectoires de croissance des 11 clones et de la somme de leurs deux derniers paramètres.

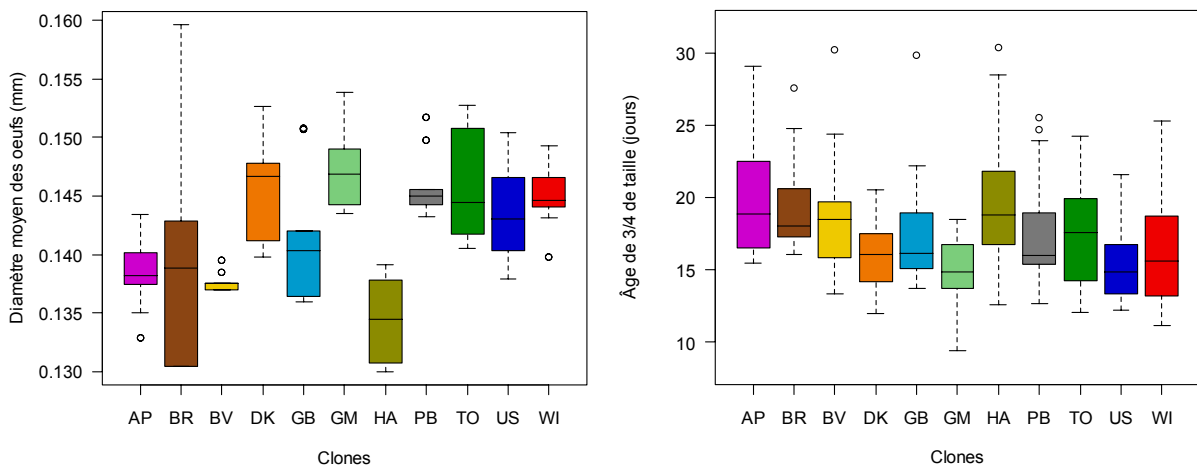


Figure 36 Boîtes à moustache. À gauche : Taille moyenne des œufs des pontes desquelles sont issues les femelles étudiées. Il existe une forte variabilité quant à la taille des œufs qui est étroitement associée à des effets génétiques ($\chi^2_1=92.2$, $P<0.0001$). À droite, âge moyen au bout duquel les collemboles atteignent 73% de leur taille asymptotique.

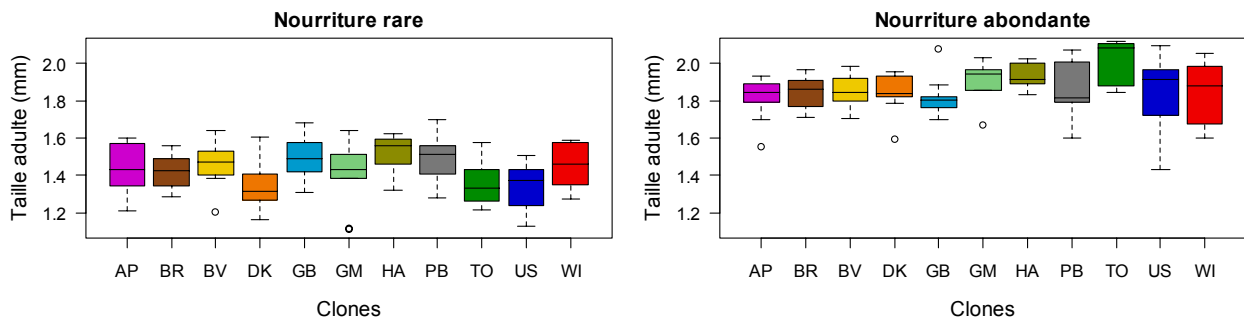


Figure 37 Tailles adultes des différents clones dans les deux environnements de nourrissage

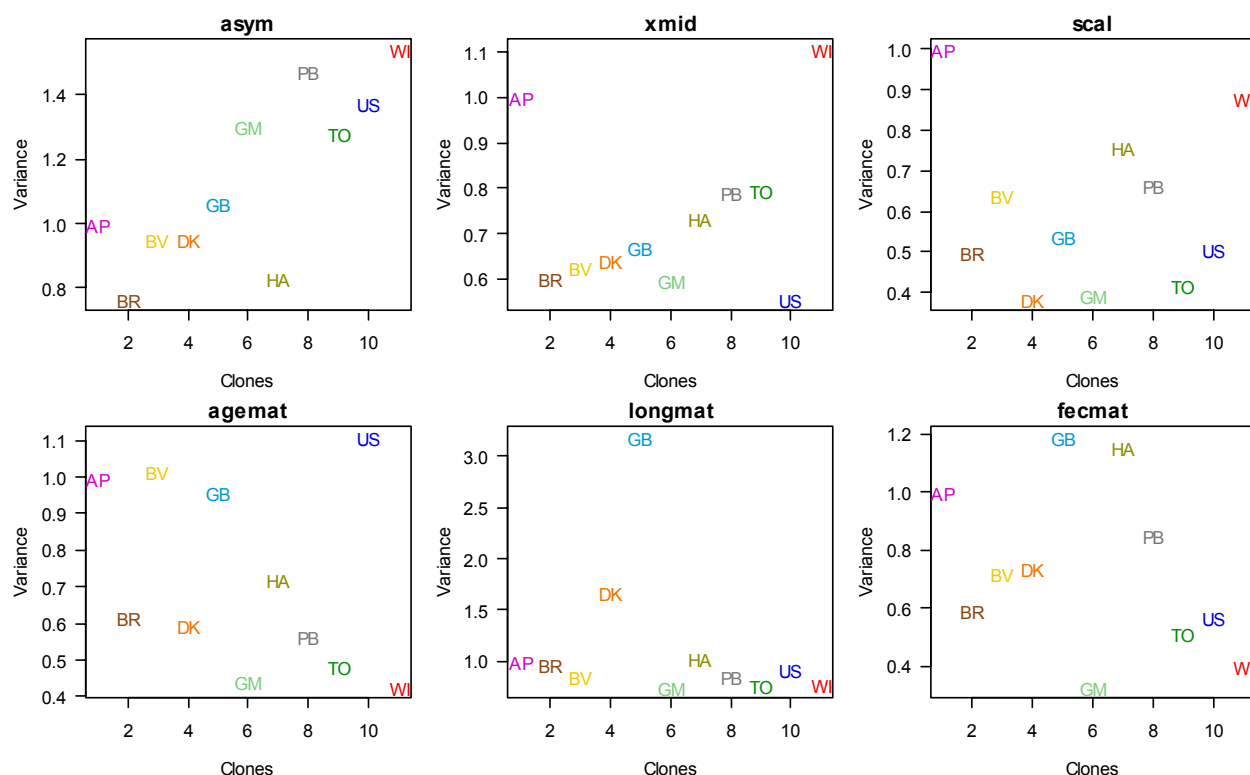


Figure 38 Valeurs relatives des variances par rapport au clone AP (=1) pour la taille asymptotique (*asym*), l'âge au point d'inflexion (*xmid*), le paramètre d'échelle (*scal*), l'âge (*agemat*), la longueur (*longmat*) et la fécondité (*fecmat*) à la maturité.

C II 3) Héritabilité de la taille en fonction de l'âge

Afin d'étudier la manière dont varie l'héritabilité de la taille corporelle en fonction de l'âge, nous avons estimé récursivement la valeur des héritabilités pour la plasticité de la taille et la taille dans les deux environnements à partir des données récoltées sur une période de 10 jours consécutifs, cette période étant décalée jour après jour sur les 70 premiers jours de suivis. Les modèles utilisés comportent l'effet de l'âge en effet fixe.

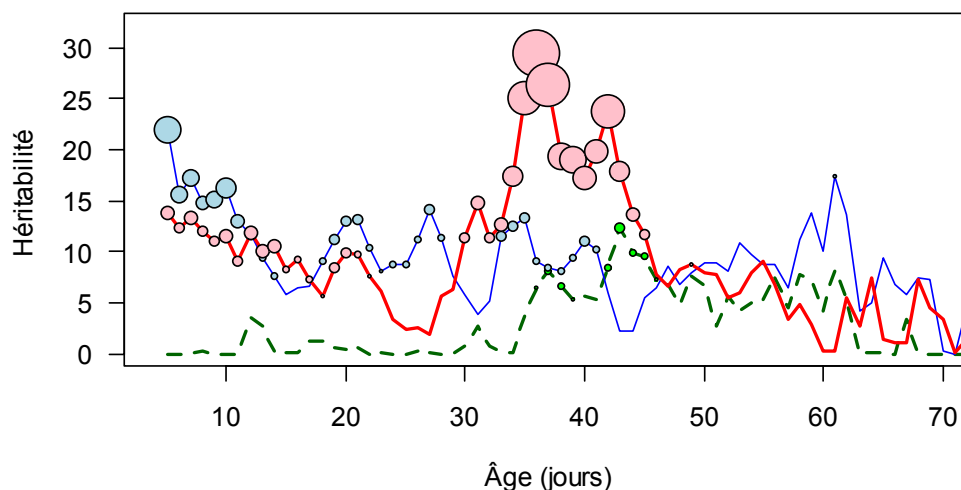


Figure 39 Mesure d'héritabilité de la longueur corporelle en fonction de l'âge du collembole. En trait discontinu vert figure l'héritabilité de la plasticité. En traits continus figurent l'héritabilité de la longueur corporelle lorsque la nourriture est abondante (trait gras rouge) ou rare (trait fin bleu). Lorsque les valeurs mesurées d'héritabilités sont significativement différentes de zéro, la valeur est soulignée par un cercle plein dont la surface est proportionnelle à l'intensité de l'effet détecté.

La Figure 39 montre qu'une héritabilité se manifeste dans les deux environnements de manière précoce puis diminue pour devenir très faible aux alentours de 20 à 30 jours. On peut observer ensuite un pic d'héritabilité entre 35 et 45 jours dans lorsque la nourriture est abondante, ce pic s'accompagnant d'une légère héritabilité de la plasticité. Cette fenêtre temporelle correspond à la période précédant la stabilisation des tailles adultes. Après 50 jours plus aucune variance génétique n'est observable dans aucun des deux milieux.

C II 4) Corrélations phénotypiques et génétiques

Les corrélations (phénotypiques globales, génétiques et phénotypiques intra-clone) entre les trois paramètres des courbes de croissance ont été mesurées et sont présentées dans le Tableau 7 et la Figure 40.

C II 4 a) Âge au point d'inflexion et paramètre d'échelle

Les deux traits sont positivement corrélés dans les deux environnements au niveau phénotypique global (~ 0.72), phénotypique intra-clone et génétique. Cette corrélation marquée et persistante à la fois entre environnements et entre niveaux de décomposition de la variance peut résulter d'un certain degré de dépendance de ces deux paramètres induit par la construction même des modèles de croissance logistique.

C II 4 b) Taille asymptotique et paramètre d'échelle

La corrélation positive plus faible ($\text{cor} \sim 0.34$) entre paramètre d'échelle et taille asymptotique observée dans les deux environnements au niveau phénotypique global est, quant à elle, due essentiellement à la corrélation phénotypique intra-clone sous-jacente.

C II 4 c) Taille asymptotique et âge au point d'inflexion

Ces deux traits sont bien sûr positivement corrélés : un collembole va mettre d'autant plus de temps à atteindre la moitié de sa taille adulte qu'elle est grande. Cependant, on peut noter que cette corrélation phénotypique globale positive entre les deux traits dans les deux régimes de nourriture est essentiellement due à la corrélation phénotypique intra-clone sous-jacente, la corrélation génétique étant elle-même moins marquée, en raison notamment du faible niveau de variabilité génétique sur la taille adulte.

Tableau 7 Corrélations phénotypiques globales, génétiques et phénotypique intra-clone entre les trois paramètres des courbes de croissance corporelle, la taille asymptotique (*asym*, mm), l'âge au point d'inflexion (*xmid*, jours) et le paramètre d'échelle (*scal*, jours) et l'âge au 3/4 de croissance (*XS*) dans les deux environnements de nourriture ("Nour". faible nourriture : "F"; haute nourriture : "H").

Paramètre	Nour		Phénotypique global					Phénotypique intra-clone					Génétique				
			(Figure 40, A, B et C)					(Figure 40, D, E et F)					(Figure 40, G, H et I)				
			Cor	IC 95%	t	ddl	P	Cor	IC 95%	t	ddl	P	Cor	IC 95%	t	ddl	P
xmid	scal	F	0.72	.61;80	10.7	103	<.0001	.70	.59; 79	10.0	103	<.0001	0.85	.51;96	4.86	9	0.0009
		H	0.72	.61;80	10.5	104	<.0001	.67	.55;76	9.2	104	<.0001	0.86	.53;96	4.99	9	0.0007
asym	scal	F	0.35	.17;51	3.82	103	0.0002	.34	.16;50	3.7	103	.0003	0.56	-.23;82	1.41	9	0.19
		H	0.33	.10;49	3.57	104	0.0005	.28	.09;45	3.0	104	.004	0.55	-.06;87	2.02	9	0.07
asym	xmid	F	0.66	.54;76	9.00	103	<.0001	.67	.55;77	9.2	103	<.0001	0.61	.02;89	2.33	9	0.044
		H	0.49	.32;62	5.67	104	<.0001	.46	.29;60	5.3	104	<.0001	0.60	.00;88	2.27	9	0.048
asym	scal	F	0.52	.37;65	6.27	103	<.0001	.52	.37;65	6.3	103	<.0001	0.53	-.09;86	1.9	9	0.09
		H	0.44	.28;58	5.06	104	<.0001	.41	.24;65	4.6	104	<.0001	0.60	.00;88	2.28	9	0.048

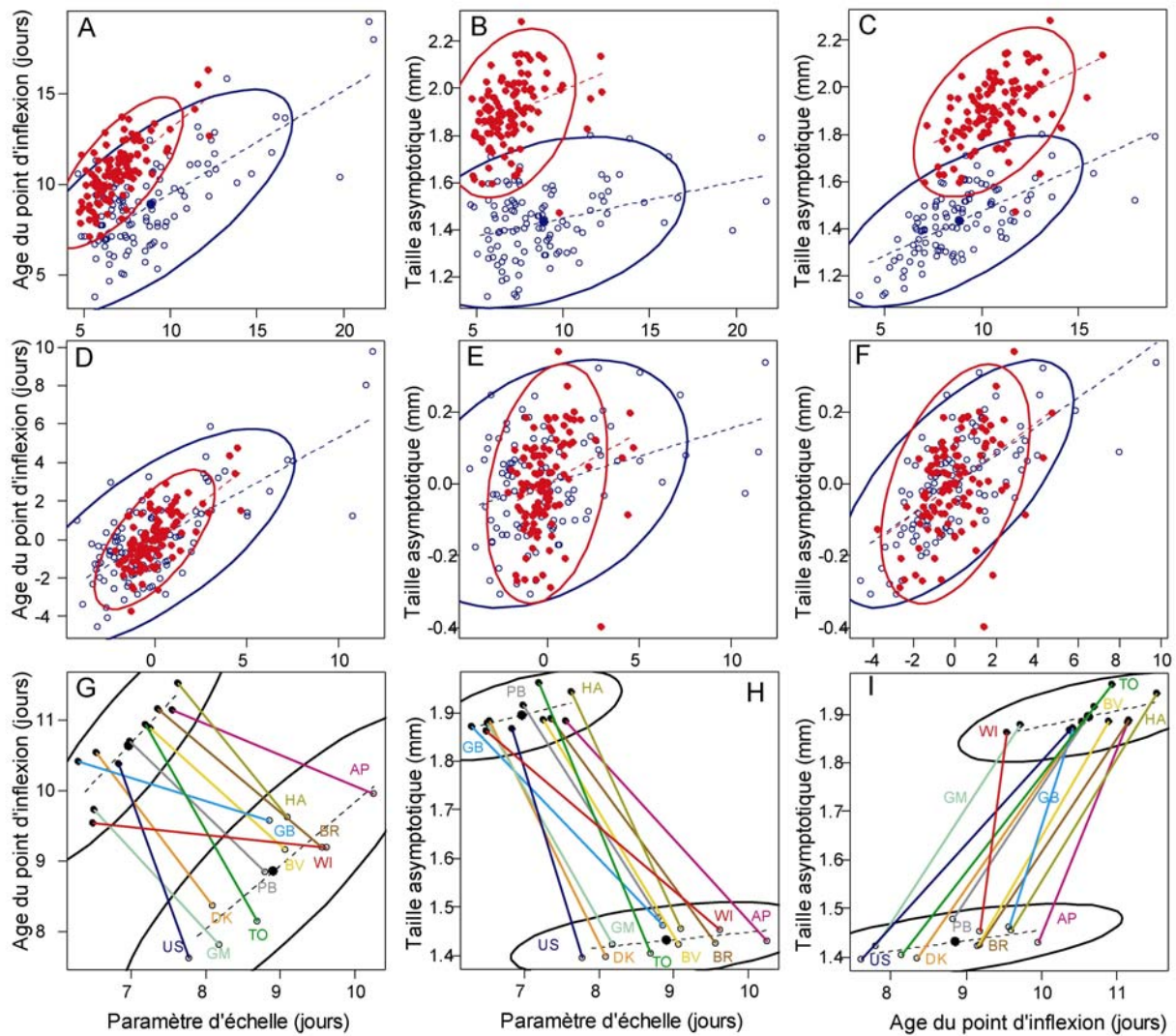


Figure 40 Relations entre les trois paramètres estimés par la courbe de croissance logistique : taille asymptotique, paramètre d'échelle, âge au point d'inflexion de la courbe. A, B et C : valeurs phénotypiques des traits dans les deux environnements (cercles vides bleus : nourriture rare ; cercles pleins rouges : nourriture abondante) ; D, E et F : résidus phénotypiques intra-clone. G, H et I : valeurs génétiques.

C III Maturation

Afin d'analyser les relations entre traitement de nourrissage, effets génétiques et âge, longueur et fécondité à la maturité, nous avons dans un premier temps analysé séparément chacun des trois traits mesurés en fonction tout d'abord du traitement et des covariables maternelles, puis en fonction des paramètres de la courbe de croissance ajustée. Enfin, afin d'étudier les relations entre les trois traits, nous avons analysé chaque trait en fonction des deux autres et de l'effet nourriture. Dans toutes les analyses, l'effet clone est inclus et testé comme effet aléatoire.

C III 1) Analyse des paramètres de la maturation

C III 1 a) Effet du régime de nourrissage

○ Moyenne

Lorsque la nourriture est constamment présente, les collemboles atteignent la maturité en moyenne plus tôt, à une taille plus grande et produisent plus d'œufs que lorsque la nourriture est rare ($\chi^2_1 > 65$, $P < 0.0001$, Tableau 8 et Figure 44). En revanche la taille des œufs pondus ne varie pas en fonction du régime de nourrissage ($P = 0.35$).

○ Variance

La variance intra-clone de l'âge à maturité diminue lorsque la nourriture est abondante ($P < 0.0001$) alors que celle de la fécondité à maturité augmente. Ni la variance intra-clone de la longueur à maturité ni celle de la taille moyenne des œufs ne sont quant à elles affectées par le régime de nourrissage ($P > 0.14$, Tableau 8 et Figure 44).

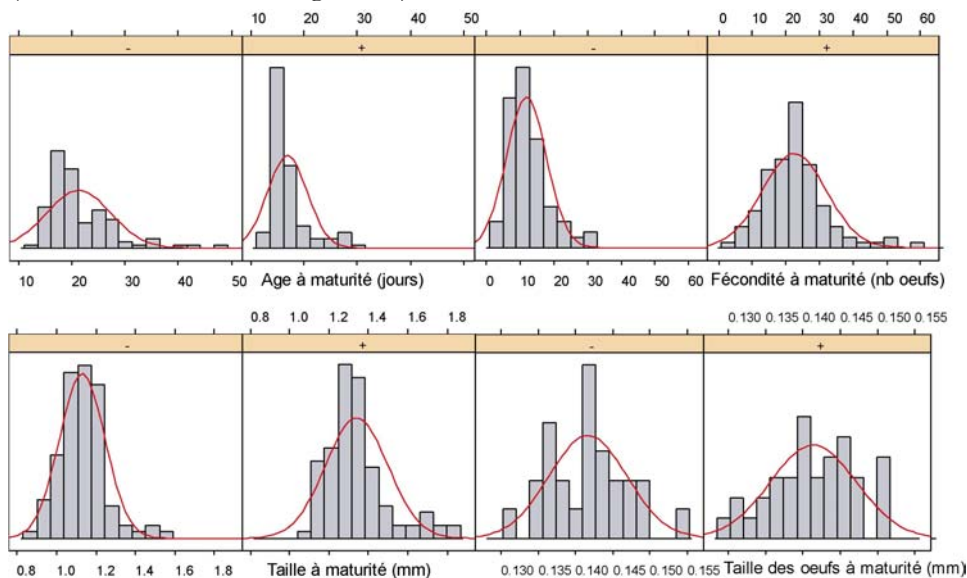


Figure 41 Distribution des valeurs mesurées d'âge, de taille, de fécondité et de taille des œufs à la maturité dans les deux environnements de nourrissage (+ : nourriture abondante ; - : nourriture rare).

Tableau 8 Effet du régime de nourrissage sur les moyennes et les variances des caractéristiques de la maturation. La variance relative du trait dans l'environnement à nourriture abondante par rapport à la variance du trait en nourriture rare est indiquée.

Variable	Moyenne			Variance		
	Nourriture rare	Nourriture abondante	Changement	χ^2_1	P	abondante / rare
Âge (jours)	21.27	16.84	-21%	65.7	<0.0001	0.42
Longueur (mm)	1.13	1.34	+18%	140.2	<0.0001	1.17
Fécondité (nb œufs)	11.83	22.54	+90%	84.1	<0.0001	1.59
Volume moyen des œufs (mm ³)	0.001480	0.001516	ns	0.89	0.35	ns

C III 1 b) Effets maternels

○ Effets mères

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de corrélations significatives²¹ entre les âges à maturité ($\chi^2_1=0.62$, $P=0.43$), les tailles à maturité ($\chi^2_1=0.0025$, $P=0.96$), les fécondités à maturité ($\chi^2_1=0.54$, $P=0.46$) ou la taille moyenne des œufs de la première ponte ($\chi^2_1=0.12$, $P=0.72$) de jeunes femelles issues de la même mère.

○ Covariables maternelles

Les covariables maternelles testées sont la **surface moyenne des œufs** et le **nombre d'œufs** de la ponte dont chaque individu est issu.

L'âge à maturité ne dépend pas de la taille de ponte d'origine ($\chi^2_1=0.0012$, $P=0.97$) ni de la taille moyenne des œufs de la ponte d'origine ($\chi^2_1=2.516$, $P=0.11$). Cependant, il convient de noter que dans un modèle sans effet aléatoire "clone", l'effet fixe "taille des œufs" devient significatif ($\chi^2_1=4.31$, $P=0.038$) : les jeunes collemboles deviennent mature d'autant plus vite qu'ils sont issus de pontes dont les œufs sont gros et ceci quel que soit le traitement en nourriture ($\chi^2_1=0.29$, $P=0.59$, Figure 42). Étant donné qu'une part importante de la variabilité de la taille moyenne des œufs est due à des différences génétiques entre clones (46.6%), il n'est plus possible de détecter cet effet maternel dès lors qu'un effet aléatoire "clone" est inclus dans le modèle.

La longueur à maturité n'est pas influencée par la taille moyenne des œufs de la ponte d'origine ($\chi^2_1=3.8$, $P=0.14$) mais l'est par la taille de ponte et ceci de manière différente dans les deux traitements de nourriture ($\chi^2_1=5.52$, $P=0.19$) : lorsque la nourriture est abondante, il n'y a aucun effet maternel ($\chi^2_1=2.96$, $P=0.085$) alors que lorsque la nourriture est rare, la longueur à maturité est d'autant plus grande qu'est grande la taille de ponte d'origine ($\chi^2_1=5.09$, $P=0.024$, Figure 42).

La fécondité à maturité n'est pas non plus influencée par la taille moyenne des œufs de la ponte d'origine ($\chi^2_1=0.025$, $P=0.87$) mais est, comme la longueur à maturité, influencée par une interaction entre régime de nourrissage et taille de la ponte d'origine ($\chi^2_1=11.02$, $P=0.001$) : en présence de nourriture abondante, la fécondité à maturité est indépendante de la taille de la ponte d'origine ($\chi^2_1=2.04$, $P=0.15$) mais elle est positivement liée à cette dernière lorsque la nourriture est rare ($\chi^2_1=16.36$, $P=0.0001$, Figure 42).

Les réponses parallèles de la fécondité et de la longueur à maturité aux effets maternels sont dues au fait que ces deux traits sont très fortement corrélés.

La taille des œufs à maturité est indépendante des effets maternels ($\chi^2_1<0.35$, $P>0.55$).

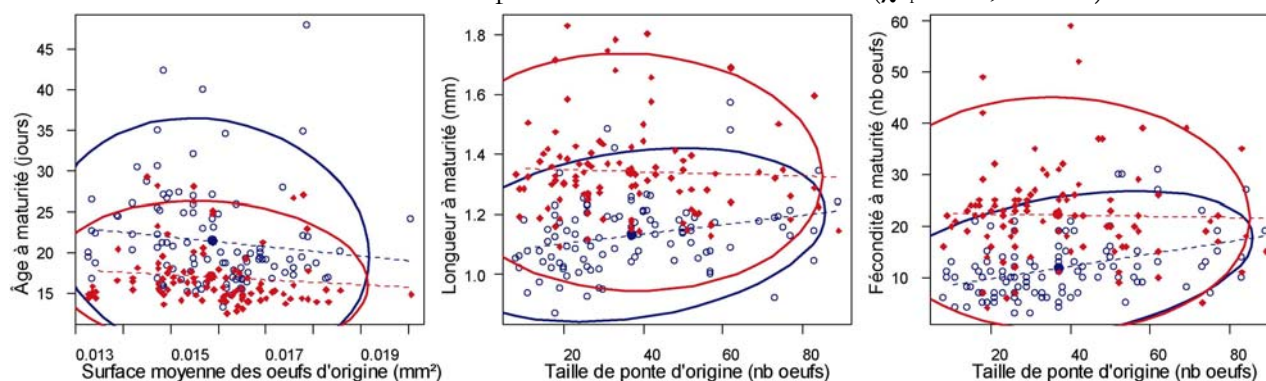


Figure 42 Effets des covariables maternelles (surface moyenne des œufs et nombre d'œufs de la ponte dont chaque collemboule suivi est issu) sur l'âge, la longueur et la fécondité à la maturité.

²¹ L'effet mère est placé ici en effet aléatoire.

C III 1 c) Effets génétiques

○ Plasticité et héritabilité

La plasticité de **l'âge à maturité** est identique entre les différents clones ($P=0.25$). Il existe une forte variabilité génétique sur l'âge à maturité aussi bien dans le régime à faible nourriture ($h^2=46\%$) qu'à forte nourriture ($h^2=78\%$) mais ces très fortes valeurs d'héritabilité sont en fait dues en grande partie au clone GB qui se distingue des autres clones par une maturité beaucoup plus tardive (Figure 44). Cependant, un certain niveau de variabilité génétique d'âge à maturité reste détectable chez les autres clones dans les deux environnements ($h^2\sim 20\%$, $P<0.01$, Tableau 9).

La **longueur à maturité** a une plasticité héritable ($h^2=13\%$) mais cette héritabilité n'est en fait due qu'à la norme de réaction particulière, plus pentue (Figure 44), du clone GB. La plasticité de la longueur à maturité en fonction de la disponibilité en ressources ne varie pas entre les autres clones ($P=0.98$, Figure 44). Au sein de chaque régime de nourrissage, on observe une variabilité génétique assez forte pour la longueur à maturité mais à nouveau, cette variabilité n'est due qu'au clone GB qui a une taille à maturité particulièrement élevée. La longueur à maturité ne diffère pas entre les autres clones ($P>0.61$).

La plasticité de la **fécondité à maturité** est héritable ($h^2=21\%$, $P=0.004$) et ceci n'est pas cette fois-ci dû aux propriétés d'un seul clone. Cette héritabilité de la plasticité est due au fait que, lorsque la nourriture est rare, aucune variance génétique ne s'exprime sur ce trait ($P=0.60$), alors qu'en condition de nourriture abondante, une variabilité génétique apparaît ($h^2=17\%$, $P=0.002$), les normes de réaction se déployant en éventail (Figure 44) avec notamment les clones AP et GB qui ont une fécondité à maturité particulièrement élevée.

En ce qui concerne la **taille moyenne des œufs** de la première ponte, celle-ci varie entre clones ($P<0.001$, $h^2=39\%$ sur les deux environnements) mais de manière similaire entre les deux régimes de nourriture ($P=0.83$). Le faible nombre de pontes pour lesquelles nous possédons la mesure de taille des œufs en régime faible nourriture explique sans doute que dans cet environnement l'héritabilité mesurée ne soit pas significativement différente de zéro ($n=26$, $P=0.12$). Dans l'environnement à forte disponibilité en nourriture, l'héritabilité vaut 36% ($n=37$, $P=0.02$), valeur proche d'une mesure globale d'héritabilité sur les deux environnements (Figure 43).

○ Variance intra-clone

La variance intra-clone de l'âge à maturité ($\chi^2_{10}=44.1$, $P<0.0001$), de la longueur à maturité ($\chi^2_{10}=28.7$, $P=0.0014$) et de la fécondité à maturité ($\chi^2_{10}=56.0$, $P<0.0001$) varie entre les clones (Figure 38). En revanche ce n'est pas le cas pour la variance de taille des œufs qui est homogène entre clones ($\chi^2_{10}=9.13$, $P=0.52$).

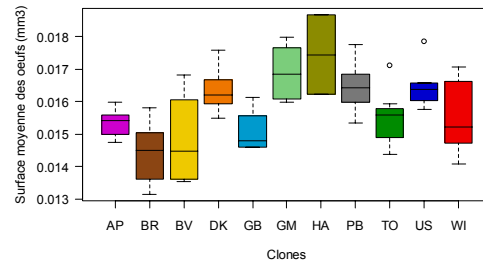


Figure 43 Taille moyenne des œufs des premières pontes. La différence entre clones est significative ($n=63$ pontes, $h^2=39\%$, $\chi^2_1=12.1$, $P=0.0005$).

Tableau 9 Héritabilités de la plasticité et de la valeur des paramètres du processus de maturation dans les deux environnements. Les valeurs des héritabilités significativement différentes de zéro ou proche de zéro sont figurées avec les intervalles de confiances associés.

Variable	Plasticité			Faible nourriture			Forte nourriture		
	Test (ddl=1)	h ² %	Mode IC 95%	Test (ddl=1)	h ² %	Mode IC 95%	Test (ddl=1)	h ² %	Mode IC 95%
Âge	$\chi^2=1.31$, $P=0.25$	8.1	1.1;26.1	$\chi^2=31.5$, $P<.0001$	46.2	17.0;69.0	$\chi^2=96.2$, $P<.0001$	77.7	13.3;89.5
sans GB	$\chi^2=2.53$, $P=0.11$	8.1		$\chi^2=8.9$, $P=.003$	20.0		$\chi^2=6.7$, $P=0.01$	17.2	
Longueur	$\chi^2=5.35$, $P=0.02$	12.9	1.6;25.6	$\chi^2=17.2$, $P<.0001$	33.7	2.3;56.1	$\chi^2=50.4$, $P<.0001$	61.7	0.44;78.6
sans GB	$\chi^2=0.000$, $P=.98$	0.02		$\chi^2=.25$, $P=.61$	2.73		$\chi^2=0.0003$, $P=0.98$	0.002	
Fécondité	$\chi^2=8.08$, $P=0.004$	21.1	2.4;41.2	$\chi^2=.27$, $P=.60$	11.4	0.3;28.2	$\chi^2=9.2$, $P=.0024$	26.9	1.1;51.8
sans GB	$\chi^2=10.2$, $P=.001$	16.5		$\chi^2=.82$, $P=.36$	4.8		$\chi^2=9.8$, $P=.0017$	21.2	
Taille des œufs ²²	$\chi^2=0.05$, $P=0.83$	1.8		$\chi^2=2.36$, $P=.12$	36.7		$\chi^2=6.0$, $P=.014$	36.8	

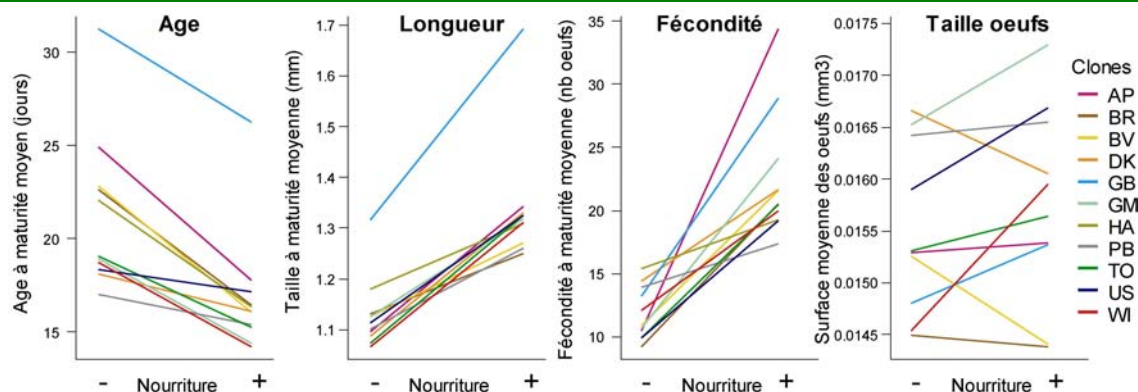


Figure 44 Normes de réactions univariées pour les âges, longueurs, fécondités et tailles des œufs à maturité. Les moyennes des traits sont représentées pour chacun des 11 clones dans chaque environnement de nourrissage. Remarquer la taille et l'âge particulièrement élevées pour le clone « GB ». Pour la fécondité, on peut remarquer la pente significativement différente du clone AP.

C III 2) Corrélations phénotypiques et génétiques

Les corrélations entre âge, taille et fécondité à maturité sont étudiées à l'échelle phénotypique globale puis décomposées en leur composantes phénotypiques intra-clone et génétique. Les corrélations et leurs mesures sont rapportées dans la Figure 45 et dans le Tableau 10.

²² Nous avons mesuré ici l'héritabilité de la taille moyenne par ponte des œufs et non de la taille des œufs. La variance de la taille d'œuf intraponte n'est donc pas prise en compte.

C III 2 a) Âge et longueur à maturité

Au niveau phénotypique global, les deux traits sont positivement corrélés : les collemboles ayant une maturité plus tardive l'atteignent à une taille plus grande. Cette corrélation entre âge et taille à maturité est plus marquée lorsque la nourriture est abondante. La décomposition des valeurs phénotypiques globales en composante génétique et phénotypique intra-clone montre que la corrélation positive disparaît complètement au niveau intra-clone lorsque la nourriture est rare et est fortement réduite en présence de nourriture. La corrélation positive globale est en fait due à la composante génétique sous-jacente. Celle-ci est, par ailleurs, due uniquement au clone GB qui a une maturation retardée ce qui conduit à un âge et une taille à maturité pour ce clone bien plus élevés dans les deux environnements.

C III 2 b) Âge et fécondité

La corrélation phénotypique globale entre âge et fécondité change de signe entre les deux régimes de nourriture : lorsque la nourriture est abondante, les collemboles qui deviennent matures plus tardivement ont une fécondité plus élevée ($P=0.004$) alors que la relation s'inverse lorsque la nourriture est plus rare ($P=0.05$). La décomposition des traits entre valeur génétique et phénotypique intra-clone indique que la corrélation phénotypique négative observée n'est pas due à une corrélation génétique sous-jacente ($P=0.96$) mais seulement à une structuration de la part non génétique de la variabilité des deux traits ($P=0.005$). En présence de nourriture *ad libitum*, l'inverse est observé : la corrélation phénotypique positive observée est due essentiellement à la valeur génétique particulière du clone GB qui a à la fois une maturité plus tardive et plus féconde ($P=0.09$).

C III 2 c) Fécondité et longueur à maturité

Au niveau phénotypique global, les collemboles qui deviennent matures à une taille plus grande ont une plus forte fécondité et ceci dans les deux régimes de nourriture ($P<0.0001$). Cette relation positive entre longueur et fécondité est due à une corrélation physiologique non génétique positive entre ces deux traits dans les deux environnements ($P<0.0007$). Les valeurs génétiques des clones pour ces traits ne sont significativement corrélées dans aucun des deux environnements ($P>0.10$).

C III 2 d) Taille des œufs

Nous n'avons trouvé aucune corrélation entre la taille des œufs et les autres traits aussi bien au niveau phénotypique global que phénotypique intra-clone ou bien génétique ($P>0.07$). Seules sont représentées graphiquement les données correspondant à la relation entre taille de ponte et taille des œufs (Figure 45, D, H, L).

Tableau 10 Valeurs (intervalles de confiance et niveau de signification) des corrélations phénotypiques globales, phénotypiques intra-clone et génétiques pour chaque couple de trait de maturation, longueur (L), âge (A), fécondité (F) et taille des œufs (W) à maturité.

Paramètres	Nour		Phénotypique (Figure 45, A, B, C et D)					Phénotypique intra-clone (Figure 45, E, F, G et H)					Génétique (Figure 45, I, J, K, et L)				
			Cor	IC 95%	t	ddl	P	Cor	IC 95%	t	ddl	P	Cor	IC 95%	t	ddl	P
L	A	F	.32	.14;.48			.0006	.002	-.16;.21			.82	.82	.43;.95			.002
		sans GB	.08				.41						.40	-.31;.82			.25
		H	.68	.56;.77			<.0001	.26	.07;.43			.007	.93	.74;.98			<.0001
		sans GB	.26				.01						.14	-.54;.71			.70
F	A	F	-.19	-.36;.00			.05	-.27	-.43;-.08			.005	.02	-.59;.61			.96
		sans GB	-.23				.02						-.27	-.79;.43			.45
		H	.27	.09;.44			.004	.12	-.07;.30			.23	.53	-.10;.86			.09
		sans GB	.22				.03						.43	-.27;.83			.21
L	F	F	.49	.33;.62			<.0001	.56	.41;.67			<.0001	.30	-.37;.76			.37
		H	.38	.20;.53			<.0001	.32	.14;.48			<.0007	.52	-.11;.85			.10
W	F	F	-.25				.21	-.26	-.59;.14			.19	.56	-.06;.87			.07
		H	-.06				.70	-.19	-.48;.13			.25	-.16	-.72;.52			.65

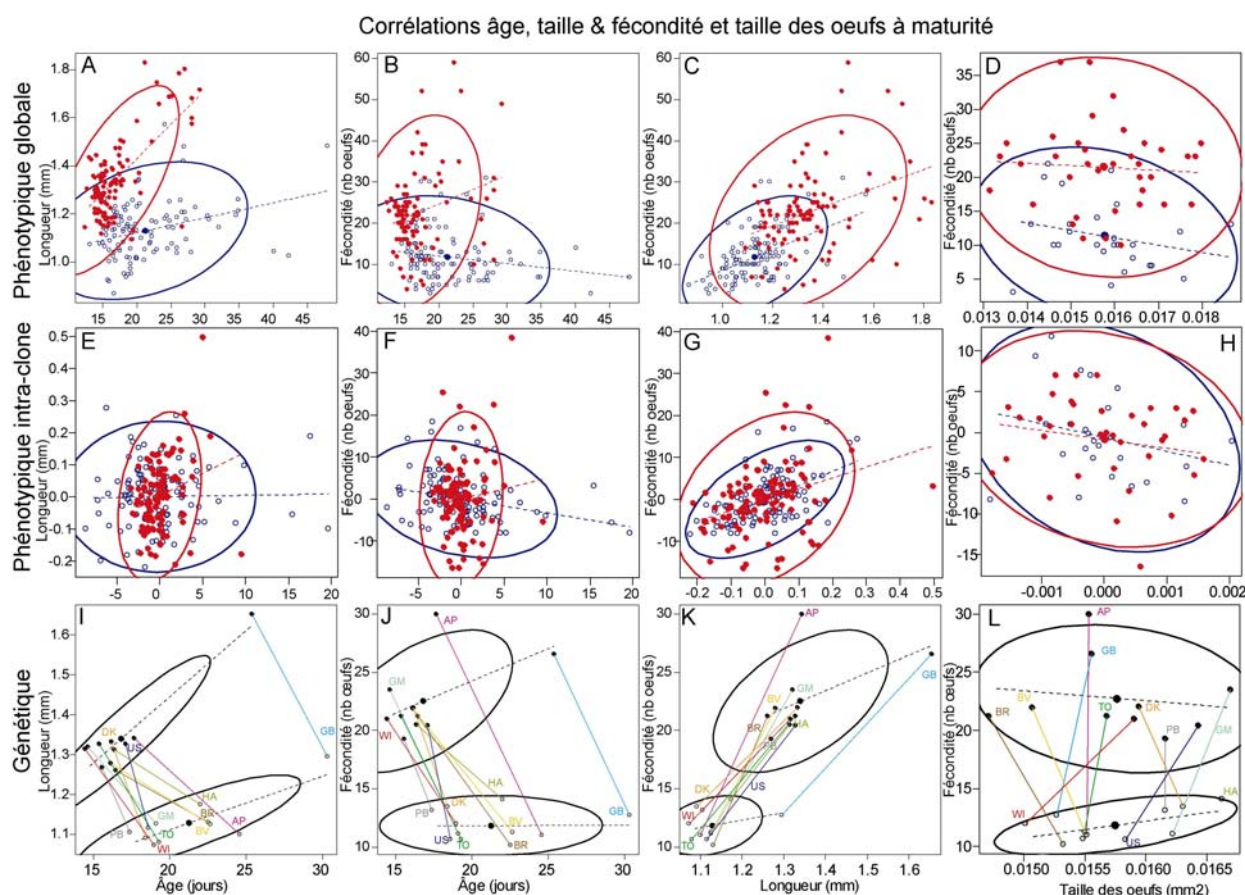


Figure 45 Normes de réaction bivariées entre âge, longueur, fécondité et taille des oeufs à maturité. Ellipses de contour à 95% (80% pour les corrélations génétiques). Pointillé : droite de régression ; Points ouverts bleus : traitement nourriture rare, points fermés rouges : traitement nourriture abondante.

C IV Maturation et trajectoires de croissance

C IV 1) Croissance et paramètres de la maturation

Nous avons analysé chaque trait associé à la maturité en fonction des trois paramètres des courbes de croissance logistique ajustées aux données.

L'**âge à maturité** augmente lorsque le paramètre d'échelle augmente ($\chi^2_1=14.53$, $P=0.0001$, Figure 46) et cette relation est d'autant plus forte que l'âge au point d'inflexion est élevé ($\chi^2_1=7.33$, $P=0.004$) et est d'autant plus faible que la taille asymptotique est grande ($\chi^2_1=21.57$, $P<0.0001$).

La **longueur à maturité** augmente quant à elle avec la taille asymptotique du collembole ($\chi^2_1=61.7$, $P<0.0001$, Figure 46) mais cette augmentation dépend elle-même de l'âge au point d'inflexion ($\chi^2_1=18.25$, $P<0.0001$) : plus cet âge est grand, plus la relation entre taille asymptotique et longueur à maturité est réduite. D'autre part, la longueur à maturité diminue avec le facteur d'échelle ($\chi^2_1=35.30$, $P<0.0001$, Figure 46) et cette relation est aussi influencée par le point d'inflexion de la courbe : plus celui-ci est précoce, plus la relation négative entre facteur d'échelle et longueur à maturité est forte.

La **fécondité à maturité** augmente avec la longueur asymptotique ($\chi^2_1=30.19$, $P<0.0001$, Figure 46) et diminue avec le paramètre d'échelle ($\chi^2_1=10.57$, $P=0.0011$, Figure 46) mais ne dépend pas de l'âge au point d'inflexion ($\chi^2_1=0.26$, $P=0.61$).

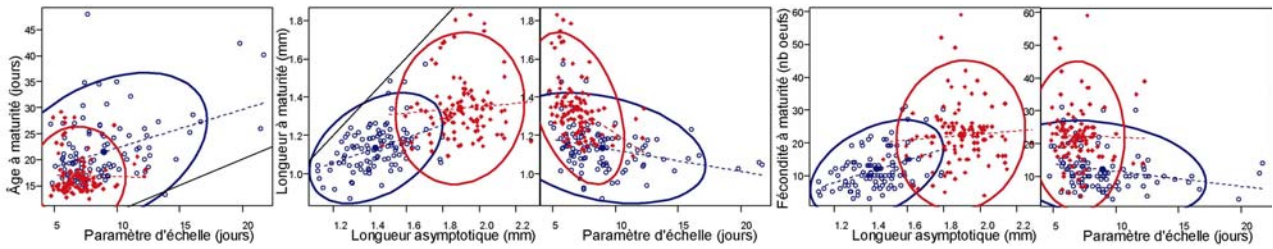


Figure 46 Effets des différents paramètres des courbes de croissance logistique sur les caractéristiques de la maturité.

D'après la Figure 46, alors que la longueur à maturité augmente avec la longueur asymptotique, la maturation semble avoir lieu plus tôt par rapport à la taille adulte lorsque celle-ci est plus grande. Cette observation nous a conduit à analyser plus en détail la taille relative à laquelle a lieu la maturation chez cette espèce.

C IV 2) Longueur à maturité et longueur adulte

Afin d'étudier la relation entre longueur à maturité et longueur adulte nous avons analysé la longueur à maturité relative à la taille adulte mesurée (proportion de taille adulte atteinte lorsque l'individu devient mature, c'est à dire le pourcentage de croissance à maturité) en fonction de la taille adulte, du traitement, et de l'origine génétique (clone).

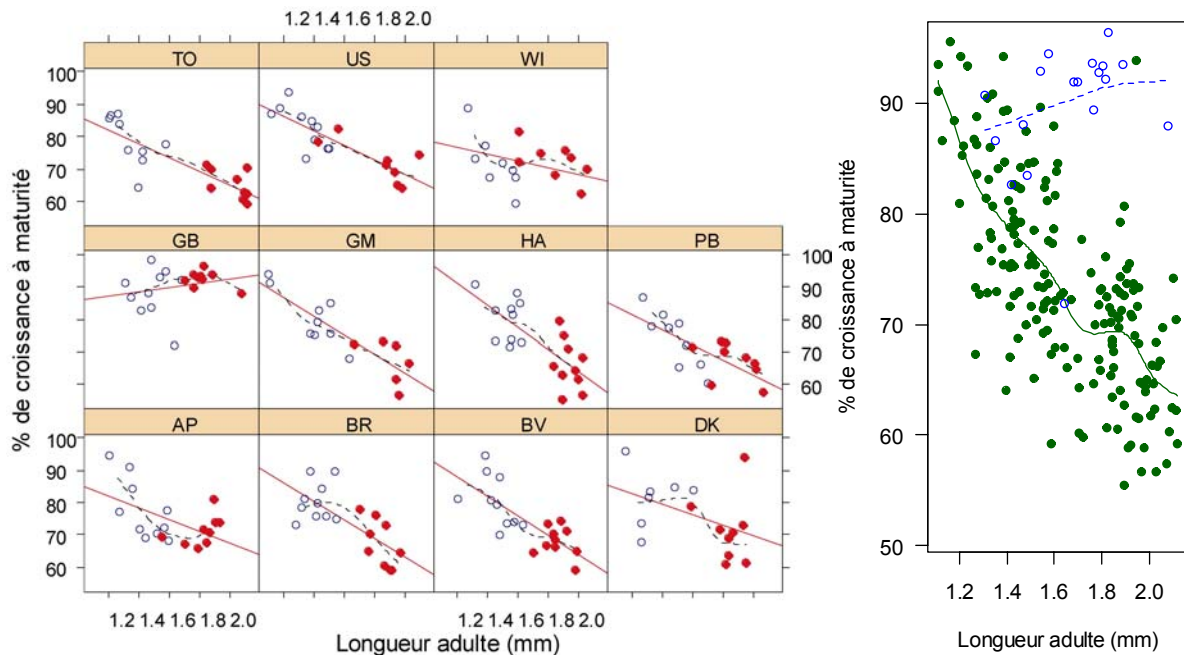


Figure 47 Proportion de croissance effectuée lorsque le collembole devient mature. À gauche : pour chaque clone, le pourcentage de croissance à maturité (longueur à maturité/longueur adulte) est figuré en fonction de la longueur adulte. Cercles vides bleus : régime de nourriture rare; cercles pleins rouges: nourriture abondante. Ligne rouge continue : droite de régression; courbe noire pointillée: fonction spline lissée. À droite, en vert sont représentées l'ensemble des données pour tous les clones sauf GB (cercles pleins) et en bleu les données pour GB (cercles vides).

Les collemboles deviennent matures en moyenne à 82% de leur taille adulte mais cette proportion peut varier entre 51 et 98%. Une partie de cette variation (31%) est expliquée par la taille adulte du collembole. De façon précise, le pourcentage de croissance à maturité est d'autant plus faible que la taille adulte est grande ($\chi^2_{11}=17.0$, $P<.0001$, $\text{pourcentage}=109-20.6*\text{longueur adulte (mm)}$). Il existe une composante aléatoire de cette relation associée à l'effet aléatoire clone ($\chi^2=11.07$, $\text{ddl}=1$, $P=0.004$) mais cet effet n'est dû qu'au clone GB : l'effet de la longueur adulte sur le pourcentage de croissance à maturité ne varie pas entre les autres clones ($\chi^2_1=0.007$, $P=0.99$). Contrairement aux autres clones,

chez GB, le pourcentage de croissance à maturité ne varie pas avec la longueur adulte ($\chi^2_1=1.03$, $P=0.31$) et reste élevé : quelle que soit leur taille finale, les individus GB deviennent matures à 90.1% (se=1.36) de leur taille adulte (Figure 47). De même l'effet clone aléatoire sur la valeur à l'origine du pourcentage de croissance ($\chi^2_1=56.5$, $P<0.0001$) n'est dû une fois encore qu'au clone GB (sans GB : $\chi^2_1=0.007$, $P=0.93$).

C IV 3) Analyses des chemins

Dans les analyses précédentes, les covariances entre paramètres de croissance ne sont pas prises en compte, ni les covariances entre les traits de maturation.

Afin d'intégrer la non-indépendance de ces données et d'éclaircir le réseau de relations de causalités ébauché jusqu'ici entre paramètres de la croissance et de la maturation, nous avons construit et comparé un certain nombre de réseaux d'interactions en partant du réseau global présenté dans la Figure 28. Nous nous sommes basés sur l'hypothèse que la maturation va être déterminée par la trajectoire de croissance d'un individu, elle-même dépendante de l'environnement, de la génétique et du bruit développemental. Pour cela nous avons utilisé la matrice de variance-covariance entre les données phénotypiques globales des six traits. Étant donné que le clone GB, se distingue manifestement des autres clones quant aux facteurs déclenchant le processus de maturation, la matrice a été calculée avec les données de tous les individus dans les deux environnements sauf celles du clone GB, soit au total 177 individus.

Les quatre modèles présentés par après ont été sélectionnés sur la base de leur capacité à bien expliquer les données observées (RMSEA faible, cf. Chapitre 1C IV) et sur leur faible CAIC (Diamantopoulos & Sigauw 2000).

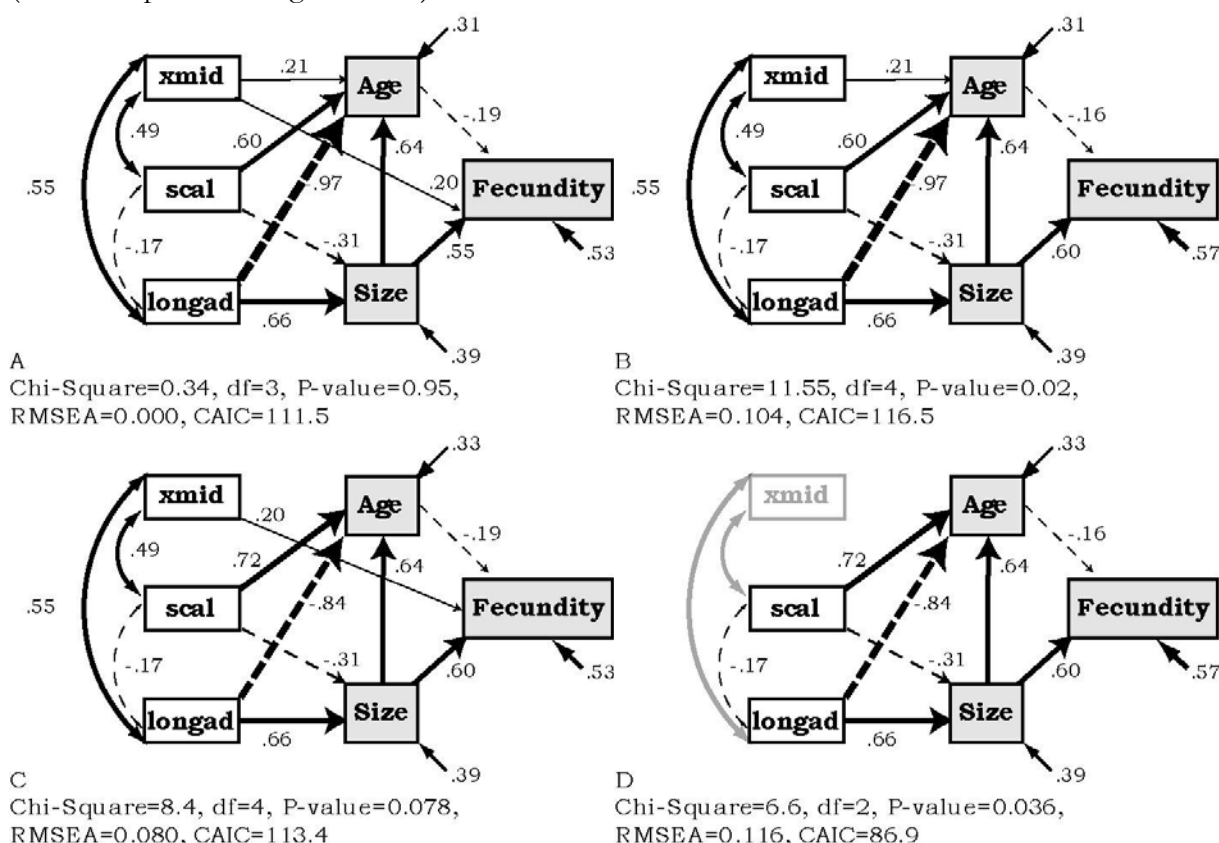


Figure 48 Diagrammes de chemins sélectionnés. La largeur des flèches est proportionnelle à l'intensité de la corrélation entre variables (coefficients de corrélation standardisés) dont la valeur figure à proximité des flèches. En trait plein, les relations de causalités positives et en trait discontinu les relations de causalités négatives. *xmid* : âge au point d'inflexion; *scal*: paramètre d'échelle, *longad*: longueur asymptotique. En grisé, les paramètres de la maturation.

Comme nous l'avons vu précédemment, paramètre d'échelle et âge au point d'inflexion sont positivement corrélés (0.49) de même qu'âge au point d'inflexion et taille adulte (0.55). En revanche, contrairement à ce que nous avons observé au sein de chaque environnement, la taille adulte et le paramètre d'échelle sont négativement corrélés (-0.17) lorsqu'on prend en compte les deux environnements en excluant le clone GB. Ces fortes corrélations, notamment entre l'âge au point d'inflexion et les deux autres paramètres, expliquent pourquoi le modèle représentant le meilleur compromis en ajustement aux données et parcimonie selon son CAIC (modèle D) n'inclut plus la variable explicative "âge au point d'inflexion": celle-ci n'apporte réellement que très peu d'information.

La **longueur à maturité** est influencée directement par la longueur adulte et par le paramètre d'échelle : plus les collemboles atteignent une taille adulte grande, plus ils deviennent matures à une taille elle-même élevée. D'autre part, pour une même taille adulte, les collemboles qui ont une vitesse de croissance élevée (paramètre d'échelle petit) atteignent la maturité à une taille plus grande.

L'**âge à maturité** est quant à lui influencé directement par la longueur à maturité : toutes choses étant égales par ailleurs, un collembole qui devient mature à une taille plus grande, devient mature aussi un peu plus tard. L'âge à maturité est aussi sous influence directe de la longueur adulte. Plus la taille adulte est grande, plus la maturation est précoce. La taille adulte a ainsi deux effets antagonistes sur la précocité de la maturation, l'un direct (-0.97) qui l'emporte sur l'effet indirect passant par la longueur à maturité ($0.66 \times 0.64 = 0.42$). D'autre part, on peut remarquer que l'âge à maturité est sous influence directe du paramètre d'échelle : plus la vitesse de croissance est élevée (paramètre d'échelle court), plus la maturité est précoce (0.72). Enfin, l'âge au point d'inflexion exerce une légère influence positive (0.21) directe sur l'âge à maturité, influence qui n'a pas été retenue dans des modèles plus parcimonieux (Figure 48 C et D).

La **fécondité à maturité** est déterminée directement, et de façon prépondérante, par la longueur à maturité (0.60) : plus les individus sont grands à la maturité, plus fournie est leur ponte. Mais elle est aussi directement déterminée par l'âge à maturité qui a une influence négative : pour une même taille à maturité, les individus tardifs pondent moins d'œufs. On peut enfin signaler une légère influence directe positive de l'âge au point d'inflexion sur la fécondité à maturité.

C V La maturation étudiée comme un processus stochastique

Étant donné la complexité de l'analyse de telles données, nous avons développé une méthode statistique originale qui considère le processus de maturation comme un processus stochastique. Cette approche est motivée par la forte variabilité interindividuelle entre environnements, mais aussi, au sein de chaque environnement, entre génotypes et entre individus du même clone au sein de chaque génotype. Cette variabilité porte à la fois sur la forme des trajectoires de croissance et la position sur une trajectoire donnée, de l'évènement de maturation. Cette méthode est développée dans le manuscrit inséré dans la partie Chapitre 7A III, page 204.

D Discussion

D I Développement embryonnaire

La durée de développement des œufs chez *Folsomia candida* est à 21°C de 9 jours et demi, proche de la valeur de 9.2 jours à 24°C rapportée par Marshall et Kevan (Marshall & Kevan 1962). Le niveau de variabilité dans la durée de développement observé est de l'ordre de quelques heures à quelques dizaines d'heures, ce qui est du même ordre de grandeur que la précision des mesures expérimentales. Malgré cela, nous avons pu déceler deux niveaux de variabilité. Bien que difficile à interpréter, des effets maternels semblent exister par le truchement d'une interaction entre taille de ponte et taille des œufs. Cette interaction va dans le sens d'un développement embryonnaire plus long pour des œufs plus gros ce qui est généralement observé chez d'autres organismes tels que les daphnies (Guisande &

Gliwicz 1992) et diverses espèces d'insectes par exemple (Gillooly & Dodson 2000) sans pour autant être général (Stewart, Hemptinne et al. 1991 ; Fox 1993 ; Levitan 2000 ; Santo, Caprioli et al. 2001).

Il n'existe pas à notre connaissance de travaux ayant quantifié le niveau de variabilité génétique des durées de développement embryonnaire chez des espèces sauvages. Dans notre étude ce trait ne semble pas héritable. La durée de développement des œufs est sans doute fortement soumise à sélection, ce qui a pu réduire le niveau de variabilité génétique. Nous avons pu cependant mettre en évidence le fait qu'un clone – le clone GB – est caractérisé par une durée de développement embryonnaire plus longue, ce qui pourrait refléter un rythme métabolique cellulaire réduit. Dans notre protocole expérimental, nous n'avons utilisé qu'un seul environnement pour le développement des œufs étant donné que la manipulation des ressources de l'environnement n'influe pas sur ce processus. Chez ce type d'organisme la température joue un rôle essentiel dans la détermination de la durée de développement (Gillooly, Charnov et al. 2002), et il serait donc intéressant de la manipuler. Cela permettrait de vérifier si l'absence d'hérabilité pour ce trait est contingente à la température utilisée au cours de l'expérience ou s'il s'agit d'un résultat généralisable sur une gamme de températures. On pourrait du même coup explorer la plasticité en réponse à ce facteur et son hérabilité. On sait en effet que la plasticité du taux de développement à la température peut être sous contrôle génétique, comme le montre l'existence du mutant *clk-1* chez le nématode dont la durée de développement ne peut plus être modifiée lorsque la température change (Guarente & Kenyon 2000).

D II Croissance

La croissance de *Folsomia* est indéterminée, et ralentie lorsque les individus vieillissent. Les trajectoires de croissance corporelle ont été modélisées de manière satisfaisante par un modèle logistique. Trois paramètres suffisent à définir une trajectoire : la taille asymptotique, l'âge auquel l'individu a atteint la moitié de sa taille finale (point d'inflexion de la courbe de croissance) et le paramètre d'échelle correspondant au temps mis par l'individu pour passer du point d'inflexion à 73% de sa taille finale. Nous avons vu que la somme des deux derniers paramètres, l'âge auquel l'individu atteint 73% de sa taille finale, mérite d'être analysé en tant que tel.

Les trajectoires de croissance sont affectées à la fois par les conditions environnementales et par le génotype des individus, facteur lié à des effets maternels.

En présence de ressources abondantes, un collembole moyen d'un clone moyen va atteindre une taille adulte plus élevée (+32%). Le même type de réponse a été observé lors d'expériences similaires, chez la caille par exemple (Gebhardthenrich & Marks 1993). Cette taille adulte plus élevée est atteinte, non pas en augmentant la durée au cours de laquelle l'individu croît, mais en augmentant sa vitesse de croissance et ceci essentiellement au cours de la fin de la période de croissance. En effet, l'âge au point d'inflexion augmente de 20% et le paramètre d'échelle diminue d'autant ce qui se manifeste par des courbes de croissances bien plus pentues. Ce sont donc essentiellement les différences de taux de croissance entre environnements qui expliquent les différences de taille adulte.

Il est remarquable de noter que la période au cours de laquelle s'effectue la croissance n'est pas affectée par le régime de nourrissage. Lorsque la nourriture est rare, les collemboles auraient pu allonger leur durée de croissance pour compenser leur faible taux de croissance et rattraper au moins en partie la taille adulte de leurs congénères en nourriture abondante. Ce type de réponse est observé par exemple chez une espèce de papillon (Nylin 1988). Or il n'en est rien chez *Folsomia*. La durée de croissance n'est pas plastique et vaut en moyenne 18 jours.

En revanche, il existe un certain niveau de variabilité génétique sur ce paramètre qui s'exprime essentiellement lorsque la nourriture est abondante. Dans cet environnement, les clones qui ont une durée de croissance un peu plus longue atteignent des tailles adultes en moyenne plus élevées. Nous avons pu mettre en évidence globalement, l'existence d'une hérabilité de l'ordre de 20 à 30% pour les paramètres de croissance en présence de nourriture. En revanche lorsque la nourriture est rare, la variance génétique devient indétectable (sauf pour le paramètre d'échelle). Chez la caille, le même type de réponse a été observé : l'hérabilité des paramètres de croissance tend à être plus élevée lorsque la

nourriture est abondante (Gebhardthenrich & Marks 1993). Chez la punaise écuylère, comme chez *Folsomia*, des différences de taille adulte entre populations ne sont apparentes que sous un régime de nourriture abondante (Solbreck, Olsson et al. 1989). Chez d'autres espèces, il n'existe pas de variabilité génétique sur la croissance (Newman 1988).

De bonnes conditions environnementales peuvent augmenter ou réduire l'héritabilité mesurée en fonction de différentes conditions (Hoffmann & Merilä 1999). Dans notre cas, cet effet semble résulter d'une variance phénotypique non génétique de ces paramètres plus grande lorsque la nourriture est rare, ce qui pourrait suffire à noyer la variance génétique dans un bruit développemental plus important. Lorsque la nourriture est abondante, les courbes de croissances sont globalement beaucoup moins variables. Cela peut être dû à notre protocole de manipulation du régime de nourriture. Le fait qu'en régime de nourriture rare la nourriture ne soit présente qu'un jour par semaine est susceptible d'augmenter la variance inter-individuelle dans les trajectoires de croissance. Il suffit par exemple qu'un individu soit en phase exuviale lors de la journée de nourrissage pour qu'il ne puisse profiter de ces ressources et prenne une semaine de retard sur d'autres collemboles qui se seraient nourris lors de cette journée.

Nous avons pu détecter un ensemble d'effets maternels sur les caractéristiques des trajectoires de croissance. Le plus remarquable est sans doute celui provenant de la taille des œufs : dans les deux environnements, les jeunes collemboles issus d'œufs plus gros atteignent le point d'inflexion plus rapidement et terminent aussi leur croissance plus rapidement. En revanche nous n'avons pas pu mettre en évidence de lien entre taille des œufs et taille adulte ou vitesse de croissance. Ainsi, produire un œuf plus gros permettra de produire un nouveau-né plus gros à la naissance ce qui lui donnera une avance par rapport aux autres individus mais pas d'autres avantages concernant la croissance, contrairement à ce qui a pu être observé chez d'autres espèces (Newman 1988 ; Anderson & Alisauskas 2002), mais en accord avec les observations de Gisbert, Williot et al. (2000), chez des esturgeons et de Hipfner & Gaston (1999) chez les Guillemots de Brünnich : les poussins issus de gros œufs n'ont pas une croissance plus rapide mais quittent le nid précocement.

Il convient de souligner qu'étant donné les fortes différences de taille d'œufs que nous avons mises en évidence entre les clones, les effets maternels liés à la taille des œufs sont en grande partie confondus avec des effets génétiques. Dans ce cas précis il semble que l'on ait pu déceler le mécanisme par lequel l'effet génétique observé agit sur la valeur du trait.

Si comme nous l'avons dit, la période de croissance n'est pas affectée par le régime de nourriture, il existe en revanche, au sein de chaque environnement, une certaine variation de cette durée entre individus au sein de chaque clone. Cette variation est deux fois plus forte lorsque la nourriture est rare qu'abondante. Cette variation inter-individuelle est liée au fait qu'au sein de chaque environnement, l'âge au point d'inflexion et le paramètre d'échelle sont corrélés positivement alors qu'entre environnements, la corrélation est négative. Cette variation au sein de chaque environnement est mise à profit par les collemboles pour atteindre une taille adulte plus ou moins grande. Elle explique en partie la variabilité interindividuelle notable de taille adulte observée dans chaque environnement aussi bien en moyenne entre clone qu'entre individus au sein des clones.

Nos résultats indiquant une claire augmentation de l'héritabilité de la taille adulte avec la disponibilité des ressources sont en accord avec d'autres travaux. Chez les daphnies, Ebert et al. (1993) ont montré que l'héritabilité de la taille adulte est plus grande dans des bonnes conditions de nourrissage ; de plus dans l'environnement riche, l'héritabilité augmente avec l'âge de la daphnie, le même type de résultats ayant été observé par ailleurs (Van Noordwijk, Van Balen et al. 1988). Dans notre cas nous avons pu observer une diminution précoce de l'héritabilité de la taille corporelle avec l'âge dans les deux environnements suivie par une augmentation lorsque la nourriture est présente, cette augmentation rappelant celle observée par Ebert. Van Noordwijk et Van Balen (1988) avancent que lorsque les conditions sont bonnes, la taille maximale qu'un organisme peut atteindre va être principalement limitée par les caractéristiques génétiques de l'individu alors qu'en conditions restrictives, les organismes ne peuvent atteindre leur taille maximale potentielle. La taille est alors largement

déterminée par les conditions environnementales. Dans ce cas l'héritabilité attendue pour la taille est plus faible en conditions pauvres qu'en conditions riches. Enfin, dans des bonnes conditions alimentaires, la taille de l'individu se rapproche de plus en plus de sa taille potentielle maximale déterminée par son génotype à mesure que l'individu vieillit et on s'attend donc à ce que la part des facteurs environnementaux sur le déterminisme de la taille diminue avec l'âge. Ainsi on peut expliquer pourquoi on observe que l'héritabilité de la taille augmente avec l'âge. Le pic d'héritabilité que nous avons observé lorsque la nourriture est abondante se situe vers la fin de la période moyenne de croissance. C'est sans doute à ce moment que se cumulent les effets de la variance génétique observée pour les différents paramètres de croissance (Figure 33).

D III Maturation

Nous avons pu mettre en évidence un fort effet des conditions environnementales sur les paramètres de la maturation : lorsque la nourriture est abondante, les collemboles atteignent la maturité en moyenne 4,5 jours plus tôt (-21%). En parallèle, leur taille à maturité augmente d'une proportion équivalente (0.2 mm en plus). Enfin leur fécondité à maturité est presque doublée. Cette réponse démontre la forte plasticité de l'âge et de la taille à maturité. Les collemboles semblent donc adopter une stratégie de maturation intermédiaire de type (3) sur la Figure 25. La très forte augmentation de fécondité observée, qui dépasse par son ampleur l'augmentation de longueur à maturité, souligne le fait que l'investissement dans la reproduction des individus est fortement augmenté lorsque la nourriture est abondante, résultat qui somme toute n'est pas surprenant.

Les paramètres de maturation diffèrent fortement entre clones. En ce qui concerne l'âge à maturité, le clone GB se distingue par sa maturité extrêmement tardive. D'autre part un groupe de clone (AP, BR, BV HA et TO) se détache nettement par une maturité tardive, particulièrement prononcée lorsque la nourriture est rare (Figure 44). En ce qui concerne la longueur à maturité, les différences génétique ne sont dues qu'au clone GB qui profite de sa maturation tardive pour atteindre une taille plus élevée que les autres clones avant la maturation. Si l'on fait temporairement abstraction de GB, les autres clones accèdent à la maturité à une taille globalement similaire. Chez le pélobate *Scaphiopus couchii*, le même patron a été observé ; une variance génétique significative a été trouvée pour la durée de développement mais pas pour la taille à maturité (Newman 1988).

Dans les deux environnements il semble donc que la taille soit le facteur principal déclenchant la maturité et que les différences observées d'âge à maturité entre les clones soient dues au fait qu'ils vont mettre un temps plus ou moins long à atteindre cette taille (paramètre d'échelle et âge au point d'inflexion sont en général plus grands). Cette relation de causalité est renforcée par l'analyse des chemins qui étaye la conclusion que l'âge à maturité est une conséquence essentiellement secondaire de la taille. La variance intraclone plus importante des formes des courbes de croissance lorsque la nourriture est rare semble être responsable de la plus forte variance portant sur l'âge à maturité que l'on mesure dans cet environnement. En revanche la taille à maturité est moins variable quand la nourriture est rare. Ces observations sont en accord avec l'existence d'une norme de réaction (probabiliste) dont la forme serait concave : plus la croissance est lente, plus la pente de la norme de réaction est faible et plus la variance d'âge est forte et celle de taille faible (ellipse bleue, Figure 49). La relation s'inversant lorsque la croissance est rapide (ellipse rouge, Figure 49). Ce type d'observation concorde assez bien avec les prédictions verbales de Wilbur et Collins (1973) et les prédictions de normes de réaction en forme de "L" de Day et Rowe (2002). Il se pourrait donc qu'il existe un seuil de taille chez *Folsomia candida* à franchir pour pouvoir devenir mature. Cependant, au cours d'une autre expérience dans laquelle aucune nourriture n'était apportée aux collemboles, nous avons pu observer que certains individus parvenaient à la maturité après environ un mois à une taille demeurant extrêmement réduite. Ces observations suggèrent donc plutôt que la pente de la norme de réaction s'affaiblit lorsque l'âge à maturité augmente, sans pour autant que la norme de réaction ne devienne complètement horizontale comme le supposerait l'existence d'un seuil.

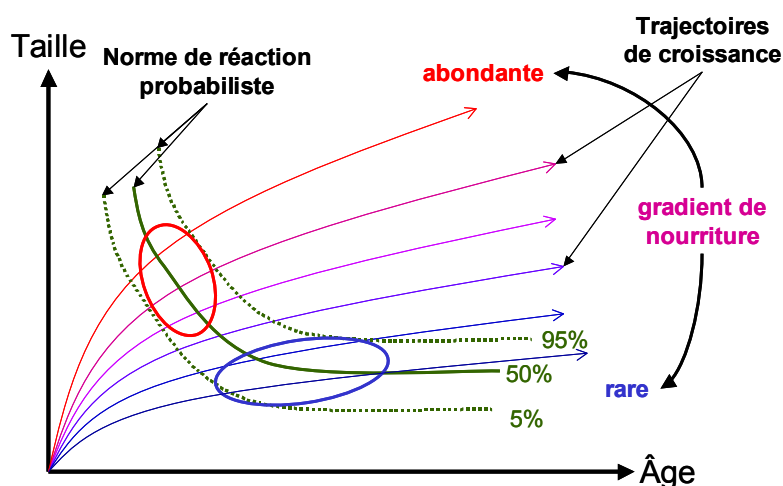


Figure 49 Représentation schématic d'une norme de réaction probabiliste concave âge et taille à maturité. Les ellipses représentent la valeur des variances attendues pour l'âge et la taille dans deux situations contrastées de nourrissages.

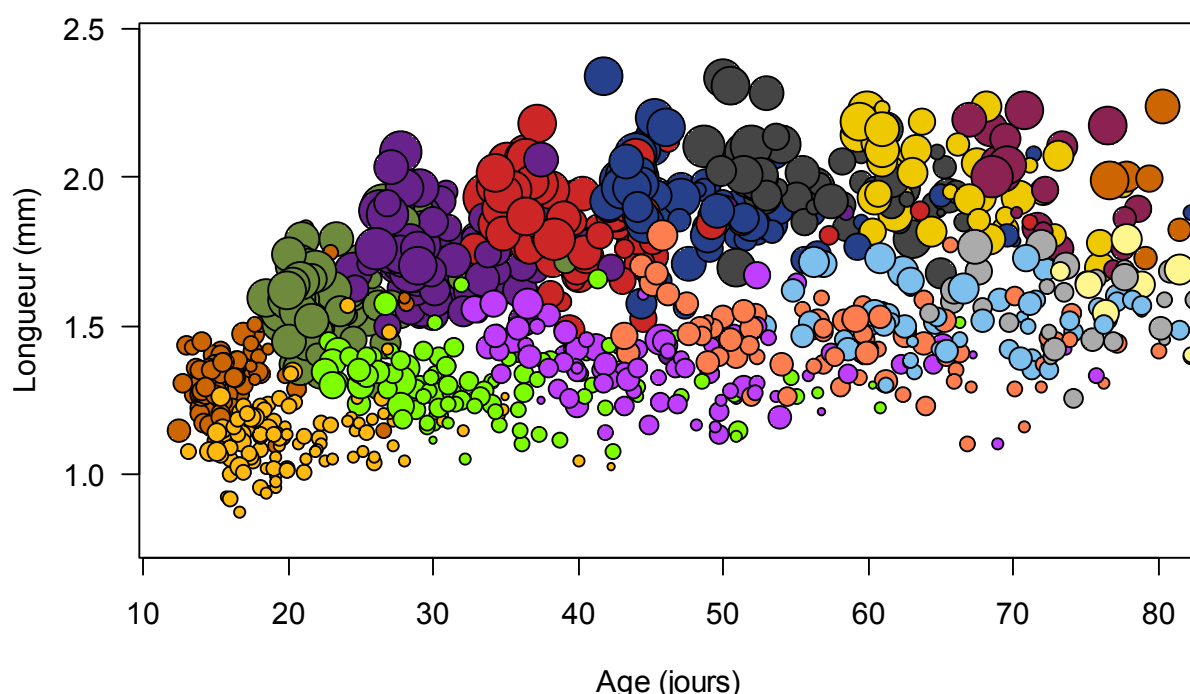


Figure 50 Événements de reproduction successifs au cours de 80 premiers jours en fonction de l'âge et de la taille du collembole. Les données des 220 individus sont représentées. Chaque cercle représente une ponte. Le volume de la sphère inscrite dans chaque cercle est proportionnelle à l'investissement reproducteur relatif (IRR) effectuée par la femelle au cours de cette ponte. Les pontes successives ont des couleurs différentes. Les couleurs sombres proviennent de l'environnement avec nourriture *ad libitum* et les couleurs claires de l'environnement de restriction calorique.

Alors que la fécondité à la maturité n'est pas héritable lorsque la nourriture est rare, elle l'est en régime de nourriture élevé. Cette différence d'héritabilité, qui se traduit par une héritabilité de la plasticité, n'est pas due comme pour les paramètres de croissance à un changement de la variance intraclone puisqu'au contraire celle-ci est aussi plus forte lorsque la nourriture est rare. Ce dernier effet est sans doute directement lié au fait que la taille à maturité qui détermine fortement la fécondité à maturité est plus variable lorsque la nourriture est abondante (Figure 49). L'héritabilité de la plasticité et de la fécondité à maturité est vraiment due à des différences entre clones de capacité d'investissement dans la reproduction. On peut remarquer sur la Figure 45 que le clone GB, s'il retarde sa maturation et pond à une taille plus grande, pond relativement peu d'œufs par rapport à sa taille comparé aux autres

clones, et ceci dans les deux environnements. Le clone AP en revanche retarde légèrement sa reproduction en présence de nourriture mais parvient à produire alors de très grandes pontes tout en ayant une taille à maturité peu différentes des autres clones ; il présente une très forte plasticité pour la fécondité à la maturité.

La moyenne et la variance de la taille des œufs ne sont pas affectées par le régime de nourrissage. Il existe comme nous l'avons déjà indiqué une variance génétique significative sur la taille des œufs mais pas sur la variance de taille d'œuf mesurée sur la première ponte. Ainsi, dans ces conditions et à cet âge, la taille des œufs n'est pas influencée par les facteurs extérieurs et semble essentiellement déterminée par l'identité génétique du clone.

Nous avons ensuite découvert que la proportion de croissance effectuée diminue lorsque la taille adulte augmente ce qui est un signe que la norme de réaction probabiliste n'est pas verticale mais bien oblique. Ainsi, lorsque les conditions environnementales sont bonnes et autorisent un fort taux de croissance, le coût énergétique relatif à la croissance semble réduit. D'autre part la mortalité précoce extrinsèque, due par exemple à une restriction alimentaire, est réduite. Ces deux éléments favorisent la croissance indéterminée post maturité (Heino & Kaitala 1999). En revanche pour le clone GB, cette relation n'apparaît pas. Il semble donc que, pour ce clone, non seulement la norme de réaction soit décalée vers la droite par rapport aux autres clones, mais aussi que la pente de cette norme de réaction soit verticale ou tout du moins plus redressée que pour les autres clones. Ainsi la position et la forme de la norme de réaction probabiliste pour l'âge et la taille à maturité possèdent un déterminisme génétique et peuvent donc être la cible de la sélection.

L'analyse des chemins permet d'éclairer les relations de causalité entre croissance et reproduction, en mettant l'accent sur l'importance conjointe de la vitesse de croissance et de la taille adulte dans la détermination de l'âge et de la taille à maturité. La maturation se produit d'autant plus tôt et à une taille plus grande que la vitesse de croissance et la taille adulte sont grandes. D'autre part, on peut remarquer que si la fécondité est positivement influencée par la taille à maturité, une maturité plus tardive est associée à une fécondité réduite. Ainsi, un retard de maturité pourrait être un signe de mauvaise qualité du collembole. Il est intéressant de noter à ce propos que la corrélation entre âge à maturité et fécondité du collembole s'inverse entre environnements. Lorsque la nourriture est rare, une maturation tardive est associée à une fécondité réduite, et cette relation est essentiellement physiologique, impliquant des différences de qualité physiologique entre individus, liées elle-mêmes à l'utilisation des ressources : les collemboles ayant par exemple manqué une période de nourrissage cumulent les problèmes de croissance et de fécondité. Lorsque la nourriture est abondante, la relation s'inverse et on observe alors un compromis entre précocité de la maturation et fécondité à maturité. Cependant, la base de ce compromis n'est pas physiologique mais génétique, le comportement particulier du clone GB étant déterminant.

D IV Conclusion

En résumé, lorsque la nourriture est abondante, la croissance est accélérée et plus calibrée, ce qui permet aux collemboles d'atteindre une taille adulte plus grande. La période de croissance est constante entre environnements. Une variance génétique s'exprime sur les trajectoires de croissance lorsque la nourriture est abondante. La maturité est plus précoce et se produit à une taille plus élevée. L'investissement reproducteur lors de la première ponte est fortement augmenté.

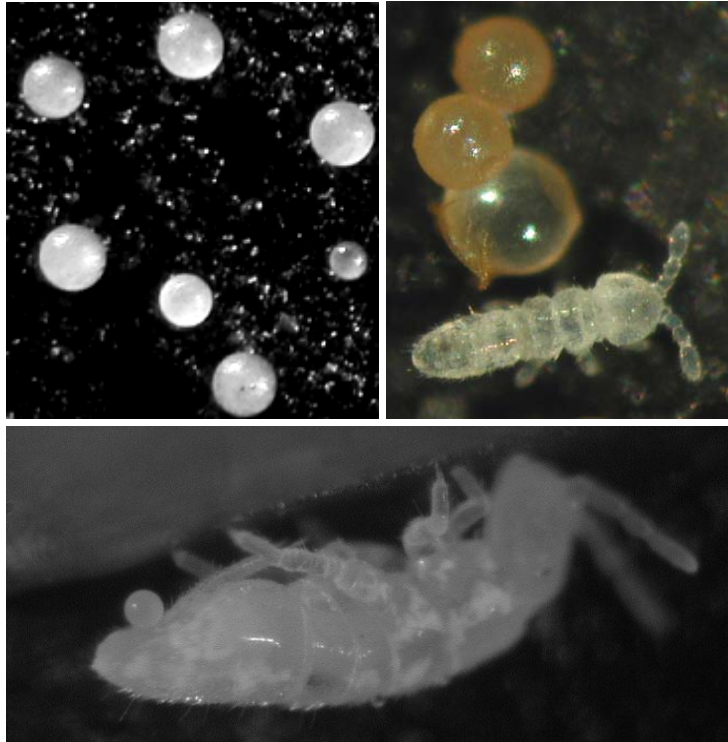
La taille des œufs est héritable mais pas plastique. Le clone GB mis à part, la taille à maturité ne diffère pas entre clones. En revanche l'âge à maturité varie et s'avère héritable, sans doute en relation avec les différences génétiques des trajectoires de croissance. Alors que lorsque la nourriture est rare, la fécondité à maturité est similaire entre génotypes, les différents clones, en présence de nourriture abondante, investissent plus ou moins fortement dans le premier évènement de reproduction.

Nous avons pu montrer l'existence d'effets maternels, les jeunes issus de gros œufs atteignant la maturité et leur taille adulte plus tôt, comme cela a pu être observé chez des rotifères par exemple (Santo, Caprioli et al. 2001). Ces effets maternels sont confondus avec des effets génétique. Il serait

nécessaire d'effectuer un suivi plus fin permettant d'attribuer, à chaque nouveau-né, la taille de l'œuf dont il provient (et non seulement la taille moyenne des œufs de sa ponte d'origine) afin de pouvoir déceler les effets de la taille des œufs au sein de chaque clone. Des effets similaires à ceux que nous avons rapportés ici conforteraient l'hypothèse selon laquelle les différences génétiques observées sont des conséquences directes des différences de taille d'œufs entre clones.

Les corrélations génétiques supposées dans l'ensemble des modèles étudiant l'évolution de la maturation n'ont globalement pas été retrouvées. La corrélation attendue entre longueur et âge à maturité a bien été observée mais repose essentiellement sur un clone singulier. Les autres corrélations ne sont pas significatives. Ces observations amènent à se poser la question de la valeur des liens que l'on peut faire entre les prédictions théoriques et le système étudié. Des approches théoriques nouvelles bouclant la rétroaction éco-évolutive devront aussi intégrer l'évolution de la maturation et l'évolution des trajectoires de croissance (Heino, Dieckmann et al. 2002).

Chapitre 4 AJUSTEMENT ET PARTAGE DE L'INVESTISSEMENT REPRODUCTEUR



" Lorsque les shadoks pondaient plusieurs œufs à la fois, ils ne pondaient pas plusieurs œufs à la fois. En effet, un œuf normal a toujours un intérieur bien à lui, et il arrive qu'un même œuf ait deux ou plusieurs intérieurs à lui tout seul. C'est pas rare. Chez les shadoks, non seulement c'était pas pareil, mais c'était quasiment le contraire. De sorte que le même intérieur, pour des raisons d'ailleurs obscures, se mettait dans plusieurs œufs. Et plus on pondait d'œufs à la fois, moins il y avait d'intérieur dans chaque, et moins il y avait de shadoks, c'était fatal."

A Introduction

La taille et le nombre d'œufs produits sont deux traits d'histoire de vie très variables. Les baleines bleues produisent des jeunes de la masse d'un éléphant adulte alors que les graines d'orchidées ne pèsent que quelques microgrammes. Nombre et taille de jeunes sont évidemment liés : une femelle de baleine ne produira qu'un seul jeune alors qu'une orchidée produit plusieurs centaines de millions de graines. De même la quantité relative d'énergie allouée dans la production de jeunes est elle-même très variable entre espèces et peut atteindre des valeurs très élevées²³. La stratégie de reproduction d'une espèce, ou d'un génotype au sein d'une espèce, est l'ensemble des valeurs moyennes et de la plasticité des traits morphologiques, physiologiques et comportementaux qui vont déterminer à quelle la fréquence et le nombre de jeunes seront produits.

Les premiers travaux s'étant intéressés à l'évolution de la taille de ponte et de celle des œufs ont consisté à étudier la **taille de ponte optimale** permettant aux parents de produire un maximum de jeunes. Initiée par David Lack (Lack 1947), cette approche considère que les parents ajustent le nombre d'œufs produits afin qu'il corresponde au nombre maximum moyen de jeunes qu'ils peuvent élever au cours de la saison. Mais cette vision repose sur un ensemble d'hypothèses très généralement violées dans les systèmes naturels (Stearns 1992). Elle suppose par exemple l'absence de compromis entre taille de ponte et survie ou reproduction future des adultes ou encore entre taille de ponte et qualité des jeunes produits. Or la théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie prédit l'existence de tels compromis en se basant sur le fait notamment que (1) la quantité de ressources dont un individu reproducteur dispose est limitée et que (2) l'investissement de ressources dans une fonction se fait nécessairement au détriment d'une autre. On s'attend ainsi à l'existence pour un effort reproducteur donné d'un compromis entre nombre et taille des jeunes produits, dont l'étude de l'effort reproducteur devrait tenir compte. La taille des œufs est un trait beaucoup moins variable que le nombre d'œufs pondus (Stearns 1992 ; Healey 2001). Les études sur l'effort reproducteur se contentent en général d'étudier le nombre d'œufs ou de jeunes produits sans forcément tenir compte de leur taille. Les études, relativement rares, du partage de cet effort reproducteur ont permis dans certains cas d'observer le compromis entre taille et nombre de jeunes. Montague et al. (1981) ont par exemple montré l'existence d'une corrélation négative entre les moyennes de volume d'œufs et de nombre d'œufs mesurées chez 36 espèces Hawaïennes de *Drosophila*. Mais une telle observation demeure difficile car, en toute rigueur, elle demande de prendre en compte, de manière expérimentale ou dans les analyses, la quantité de ressources allouées dans un événement de reproduction.

A I **Patrons de variation de l'allocation dans la reproduction**

La taille et le nombre d'œufs produits par une femelle sont deux traits d'histoire de vie fondamentaux considérés comme profondément liés du point de vue évolutif. Les deux traits varient de plusieurs ordres de grandeur entre espèces, entre individus d'une même espèce et même entre événements de reproduction au cours de la vie d'une même femelle (Stearns 1992).

Les femelles pondant un grand nombre d'œufs ont un succès reproductif plus grand et puisqu'en général la valeur reproductive d'un jeune augmente avec la quantité d'énergie investie par ses parents dans sa production (taille des œufs par exemple), les femelles produisant des jeunes plus gros ont aussi une valeur reproductive plus importante, toutes choses étant égales par ailleurs.

Mais le nombre et la taille des jeunes produits par une femelle dépendent de la quantité de ressources que celle-ci va investir dans la reproduction. Cette quantité dépend elle-même de la manière dont elle utilise les réserves qu'elle possède et les ressources qu'elle est capable d'acquérir à partager entre reproduction et maintenance. On distingue classiquement les organismes dont l'énergie utilisée dans l'effort reproducteur est puisée dans des réserves qu'il a précédemment constituées ("*capital breeder*") de

²³ Le Cecilié *Dermophis mexicanus* produit des pontes qui peuvent peser jusqu'à 65% de sa masse post-parturition (Stearns, S. C. (1992). The evolution of life histories. Oxford, Oxford University Press.

ceux dont cette énergie provient des ressources acquises récemment ("*income breeders*"). Les contraintes physiologiques derrière ces deux modes d'acquisition, de stockage et d'allocation peuvent constituer un facteur limitant le nombre et la taille des jeunes produits. Selon les rapports entre énergie acquise et dépensée et la relation entre la masse corporelle et la masse allouée à la reproduction, on peut prédire plusieurs types de relations entre la masse corporelle, l'effort reproducteur et l'âge (Boggs 1997).

Cette quantité d'énergie allouée à la reproduction est déterminée par la condition de la mère. Elle augmente généralement avec la taille de la mère, sa corpulence, et peut changer avec l'âge maternel (e.g. Boggs 1997). De plus la relation entre la condition de la mère et son investissement dans la reproduction est elle-même modulée par des facteurs environnementaux extérieurs tels que la quantité de nourriture (Glazier 1992), des interactions entre individus (Green 1964), la présence de parasites (Forbes 1993 ; Merila & Andersson 1999) ou des facteurs internes, génétiques (Grimnes & Snider 1981 ; Stam, Van De Leemkule et al. 1996) ou maternels (LaMontagne & McCauley 2001). Les drosophiles par exemple pondent plus d'œufs lorsqu'elles sont bien nourries, maintenues à des températures plutôt chaudes et à faible densité (Stearns 1992).

Une fois que la quantité d'énergie allouée à la reproduction est déterminée, comment cette énergie est-elle partagée entre les différents jeunes produits ? C'est ce que nous allons étudier dans la partie suivante.

A II Taille optimale des œufs

A II 1) Trame conceptuelle

Pour une quantité fixe de ressources allouées dans la reproduction, il existe par définition un compromis entre le nombre et la taille des jeunes produits : produire plus d'œufs implique nécessairement de produire des œufs en moyenne plus petits. La stratégie optimale d'allocation des ressources entre taille et nombre d'œufs fut étudiée pour la première fois au plan théorique par Christopher Smith et Steven Fretwell (1974). Leur modèle suppose que (1) il existe un compromis entre le nombre et la taille des œufs qu'une femelle peut produire et que (2) la valeur reproductive d'un jeune augmente avec la quantité de ressources que ses parents auront investies en lui.

Les auteurs montrent que, quel que soit le niveau d'investissement dans la reproduction d'une femelle, il existe pour chaque ensemble de conditions environnementales, **une unique taille optimale d'œufs** que la femelle devrait produire. Cette taille dépend directement et uniquement de la forme de la relation entre la quantité de ressources investie par jeune et la valeur reproductive du jeune dans cet environnement (Figure 51).

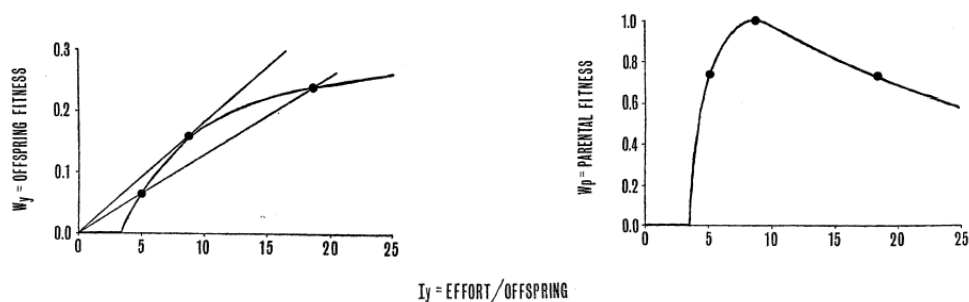


Figure 51 Présentation graphique du modèle de Smith et Fretwell (1974). La courbe convexe du graphique de gauche représente la relation entre l'effort parental moyen par jeune produit (I_y) et la qualité (valeur reproductive) moyenne des jeunes produits. En dessous d'une certaine valeur de I_y , la taille du jeune est si petite que ce dernier n'est pas viable et sa valeur reproductive nulle. La courbe n'est définie que pour une gamme de tailles de jeunes au delà de laquelle la femelle ne possède pas assez d'énergie pour produire un seul jeune. D'autre part, la concavité de la courbe peut s'interpréter comme résultant du fait qu'il existe des limites au delà desquelles la valeur sélective du jeune ne peut être améliorée quel que soit l'investissement. La stratégie d'investissement d'énergie par jeune qui maximise le succès des parents (graphique de droite) est déterminée par la fonction de fitness (droites tangentes à gauche) qui a la plus grande pente. Il s'agit de la droite tangente à la courbe et passant par l'origine.

Ainsi, tout changement de condition environnementale qui altère la forme de cette relation va modifier la taille optimale des jeunes. Par exemple, dans des conditions environnementales favorables (ressources abondantes et densité faible), un jeune de la taille minimale aura une valeur sélective quasi équivalente à celle d'un gros jeune car la survie et la croissance d'aucun des deux ne dépendra des réserves initiales mais uniquement des ressources présentes dans l'environnement. Dans un tel contexte, il n'est pas avantageux pour une femelle de produire de gros jeunes et la stratégie optimale consistera à produire des jeunes plus petits mais plus nombreux (Figure 52, courbe rouge). Lorsque l'environnement change et que les conditions deviennent plus rudes (peu de nourriture, forte densité et forte compétition avec d'autres individus), la survie d'un jeune et sa croissance vont fortement dépendre de la quantité de réserves dont il dispose à sa naissance et par là même de la quantité de ressource que ses parents ont investie pour sa formation. Dans un tel environnement, produire un jeune plus gros améliore fortement sa valeur sélective ; il est plus avantageux pour une femelle de pondre des œufs moins nombreux mais plus gros, donnant naissance à des jeunes parvenant à faire face aux contraintes environnementales plutôt que de pondre plus de jeunes plus nombreux mais plus petits dont la plus grande partie périra faute de réserves énergétiques suffisantes. La taille optimale de ponte est alors supérieure (Figure 52, courbe bleue).

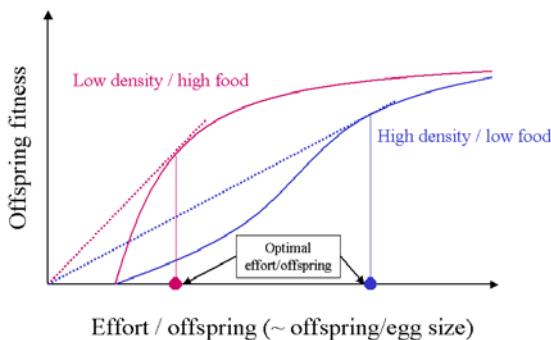


Figure 52 Une modification des conditions environnementales va altérer la forme des courbes reliant la taille des jeunes à leur qualité et par là-même modifier la taille optimale des œufs à produire.

Hypothesis	Prediction
1. Physiological constraint	Unequal allocation of resources within a clutch increases with gonad size
2. Imperfect information	Unequal allocation of resources within a clutch decreases with increasing mean egg size
Environmental predictability	
3. Inter-clutch variability	Among-female egg size variability will decrease as the environment becomes more predictable
4. Mean egg size	Mean egg size will increase as the environment becomes more predictable
5. Intra-clutch variability	Within-female egg size variability will decrease as the environment becomes more predictable

Figure 53 Les différentes hypothèses proposées pour expliquer la variation de taille d'œufs au sein d'une ponte (Tableau tiré de Koops, Hutchings et al. 2003).

Encadré 2 Avantages sélectifs associés à la taille des œufs

De légères différences de taille à la naissance peuvent avoir des conséquences importantes en terme de valeur sélective. Une taille à la naissance plus grande peut augmenter la vitesse de croissance du nouveau-né en lui conférant par exemple une plus grande performance dans la capacité d'acquisition des ressources (Wallace & Aasjord 1984 ; Braby 1994 ; Roosenburg & Kelley 1996 ; Kinnison, Unwin et al. 1998). D'autre part, dans le cas où plusieurs jeunes entrent en compétition (les jeunes poussins dans un nid), une taille plus élevée peut conférer à l'un des jeunes une dominance disproportionnée ; dans de telles circonstances l'écart initial peut s'amplifier fortement. Une taille à la naissance plus élevée peut être associée aussi à une maturation plus précoce de l'organisme si par exemple la maturation est déterminée par un seuil de taille corporelle (Hipfner & Gaston 1999). Une telle relation entre taille à la naissance et âge à la maturité a été observée par exemple chez des daphnies (Ebert 1991) ou des rotifères (Santo, Caprioli et al. 2001). Si, en revanche, la maturation est déterminée par un seuil temporel, le jeune initialement plus gros aura une taille à maturité plus élevée, qui peut se répercuter elle-même par une fécondité à maturité plus élevée (Braby 1994).

Une plus grande taille à la naissance peut enfin procurer un avantage en terme de survie (Janzen 1993 ; Braby 1994 ; Sinervo & Doughty 1996 ; Walker, Rypstra et al. 2003).

A II 2) Évolution de la plasticité

Tout environnement varie dans le temps et dans l'espace. Selon le grain de cette variabilité (Levins 1971), on peut émettre l'hypothèse que les pressions de sélection soient réunies pour favoriser

l'évolution d'une taille des œufs plastique (Fox, Thakar et al. 1997). Une plasticité de la taille des œufs en réponse à la variabilité environnementale a été mise en évidence chez plusieurs espèces d'arthropodes (revue par Fox & Czesak 2000), mais souvent les variations observées de taille des œufs en fonction des conditions environnementales semblent plutôt dues à des contraintes physiologiques (des femelles stressées ou privées de ressources pondant des œufs plus petits ou de piètre qualité) qu'à une adaptation. Les démonstrations de la nature adaptative de la plasticité de la taille des œufs restent peu nombreuses (Braby 1994 ; Kawecki 1995 ; Arbaciauskas & Lampert 2003). Chez certains Cladocères, il a cependant pu être montré que, lorsque la concentration en nourriture est réduite, les femelles produisent des œufs plus gros et plus riches en protéines et lipides ce qui augmente la taille, la qualité et la survie des nouveau-nés dans de telles conditions (Perrin 1989 ; Guisande & Gliwicz 1992). De plus, bien que les organismes itéropares soient susceptibles de rencontrer plusieurs environnements au cours de leur vie de reproducteur, peu d'études se sont intéressées à la plasticité de la taille des œufs au cours de la vie d'un individu - on parle alors de **flexibilité** (Angilletta, Wilson et al. 2003) - en réponse à la variabilité environnementale (mais voir Fox, Thakar et al. 1997).

Les études expérimentales portant sur les variations dans la relation entre la taille des jeunes et leur qualité due à des modifications de l'environnement ou à des effets génétiques sont rares. À notre connaissance aucune étude n'a utilisé un collembole comme organisme modèle pour l'étude de la plasticité et de l'évolution de la taille des œufs.

A III *Patrons de variation de la taille des œufs*

A III 1) Variation entre populations au sein d'une espèce

Au sein d'une espèce, la taille moyenne des œufs tend à augmenter avec la taille de la femelle (Fox & Czesak 2000 ; Valenzuela 2001 ; Czesak & Fox 2003 ; Olsen & Vollestad 2003). La taille des œufs peut suivre des gradients environnementaux. Ainsi, chez les arthropodes, on observe souvent que les populations d'altitude ou de latitude plus élevée produisent des œufs plus gros, de gros œufs semblant être favorisés et donc sélectionnés lorsque les températures sont plus froides (Harvey 1983 ; Fox & Czesak 2000 ; Fischer & Fiedler 2001 ; Johnston & Leggett 2002). Il a été montré expérimentalement chez la drosophile qu'une taille d'œufs plus grosse évoluait lorsque la température d'élevage est réduite (Azevedo, French et al. 1996). Les raisons physiologiques d'un tel patron sont encore mal connues.

A III 2) Variation intra-femelle

Bien que les modèles simples prédisent que dans un environnement donné, une seule taille optimale d'œuf devrait évoluer (Smith & Fretwell 1974 ; Forbes 1991 ; Lalonde 1991), la taille des œufs varie au sein des espèces entre individus d'une même population mais aussi entre pontes d'une même femelle ou entre œufs d'une même ponte. La variabilité intra-ponte de la taille des œufs a rarement été analysée (Christians 2002 ; Koops, Hutchings et al. 2003). Néanmoins, plusieurs idées ont été proposées pour expliquer l'inégale répartition des ressources entre différents jeunes d'une ponte aboutissant à une variabilité intraponte (Figure 53).

A III 2 a) Contraintes physiologiques

La première raison avancée pour expliquer la différence de taille d'œufs au sein d'une ponte indique des contraintes physiologiques qui ne permettraient pas à l'organisme d'allouer équitablement les ressources entre les différents œufs. Cela peut résulter par exemple de la distance variable qui sépare chaque œuf des vaisseaux sanguins dans les ovaires. La variation observée ne relèverait pas alors de la plasticité mais constituerait plutôt un bruit développemental. On peut dans ce cas s'attendre à ce que la variation soit d'autant plus grande que le tractus génital est développé (Koops, Hutchings et al. 2003).

A III 2 b) L'hypothèse des informations incomplètes

On s'attend classiquement à ce qu'une femelle produise des œufs plus gros lorsque les conditions environnementales sont difficiles. Lorsque la femelle se trompe quant à la qualité de l'environnement dans lequel vont se développer ses jeunes elle sera sujette à un coût en terme de nombre de jeunes recrutés si elle a produit des jeunes trop gros ou en terme de survie des jeunes si ses œufs sont trop petits. Ces coûts ne sont pas symétriques puisque lorsque les conditions environnementales sont meilleures que prévues, le coût ne consiste qu'en quelques jeunes supplémentaires que la femelle aurait pu produire, alors que dans des conditions environnementales défavorables, si les jeunes produits sont trop petits, l'ensemble de la portée peut mourir. On peut ainsi s'attendre à ce que les femelles adoptent une stratégie d'allocation des ressources inégale lorsque les conditions environnementales prédites sont bonnes. Quand les conditions environnementales prédites sont mauvaises, les femelles ont alors intérêt à minimiser la variance des œufs produits et à ne produire que des gros œufs. Cela a pu être observé chez des grenouilles arboricoles (Crump 1981) ou des Truites mouchetées, *Salvelinus fontinalis* (Koops, Hutchings et al. 2003).

A IV Investissement reproducteur et partage de la ressource

L'évolution de l'investissement dans la reproduction puis de son partage entre différents œufs a été étudiée chez de très nombreux taxons. Des changements dans le niveau d'investissement dans la reproduction affectent classiquement le nombre de jeune produits plutôt que la taille des jeunes qui est elle-même un trait généralement moins variable (Winkler & Wallin 1987). Les deux traits que sont le niveau d'investissement dans la reproduction et le partage de cette ressource entre des jeunes plus ou moins nombreux et plus ou moins gros sont considérés comme deux processus évoluant indépendamment (Lande 1982) et sont généralement étudiés séparément. Ainsi, dans la plupart des modèles théoriques d'évolution des traits d'histoire de vie on considère qu'un individu va tout d'abord "décider" de la proportion optimale des ressources qu'il va allouer à la reproduction (effort reproducteur); suit une décision concernant le partage optimal de cet investissement entre un petit nombre de gros jeunes ou de nombreux jeunes plus petits. Si des relations entre taille des jeunes et niveau d'effort reproducteur ont été considérés en théorie (Winkler & Wallin 1987), les études empiriques ou expérimentales de l'évolution de ces deux traits restent très rares. Chez les guppies, des comparaisons entre populations soumises à différents régimes de prédation indiquent qu'effort reproducteur et taille des œufs sont négativement liés (Reznick & Endler 1982). Une analyse comparative menée chez plusieurs familles de copépodes a montré l'existence d'une corrélation négative entre effort reproducteur et taille des œufs (Caley, Schwarzkopf et al. 2001). Dans les deux cas, le patron observé s'accorde aux prédictions de Winkler et Wallin (1987).

Chez *Drosophila melanogaster*, Schwarzkopf et al. (1999) ont montré que les populations expérimentales répondaient à la sélection sur la taille des œufs. Une corrélation phénotypique négative apparaît entre taille des œufs et fécondité dans les souches où les gros œufs ont été sélectionnés, sans que l'allocation dans la reproduction n'augmente. Ainsi, l'allocation dans la reproduction semble limitée par des contraintes physiologiques et ne peut plus guère évoluer. Dans les souches témoins et les lignées sélectionnées pour une taille d'œufs plus petite, aucune corrélation phénotypique entre taille et nombre d'œufs n'est observée mais l'allocation dans la reproduction diminue avec l'évolution d'œufs plus petits. Ceci pourrait être dû au fait qu'en sélectionnant des petits œufs, ce sont les génotypes à fitness réduite qui sont favorisés. Globalement, aucune corrélation génétique n'est détectée entre taille et nombre d'œufs.

Enfin les travaux qui ont de manière concomitante étudié le déterminisme génétique et la plasticité phénotypique de l'investissement dans la reproduction et du partage des ressources entre nombre et taille des œufs sont encore plus rares (Ernsting & Isaaks 2000 ; Czesak & Fox 2003).

A V Motivations de l'expérience

L'expérience présentée ici a pour but d'étudier conjointement la réponse potentielle à la sélection et la réponse à un changement soudain des conditions environnementales de (1) l'investissement dans la reproduction et l'effort reproducteur, (2) la partition des ressources investies entre taille et nombre d'œufs chez *Folsomia candida*.

Ainsi avons nous mesuré chez les 11 clones étudiés le nombre et la taille des œufs pondus par des femelles soumises à une brusque réduction de la densité ambiante accompagnée d'une augmentation de la disponibilité des ressources.

La qualité des jeunes produits en rapport avec leur taille a été étudiée en mesurant la capacité de survie de deux groupes de jeunes soumis à deux environnements contrastés, similaires à ceux subis par leurs mères.

B Matériel et méthodes

B I Taille et qualité des jeunes

Afin d'étudier l'existence d'une éventuelle relation entre taille des œufs pondus par une femelle et qualité des jeunes produits et de mesurer l'influence des conditions environnementales sur cette relation, nous avons étudié la qualité des jeunes en mesurant leur survie dans deux environnements : haute densité et absence de ressources ; faible densité et ressources abondantes.

B I 1) Environnement stressant : haute densité et absence de nourriture

Pour chaque clone, quatre pontes de taille suffisante (>20 œufs fertiles) et provenant de quatre mères différentes ont été prélevées. Une vingtaine d'œufs fertiles de chacune des pontes a été placée dans une nouvelle boîte d'élevage. Aucune nourriture n'a été fournie aux nouveau-nés qui ont éclos de ces œufs. Pour les clones GB et BR, seulement 3 pontes étaient de taille suffisante pour mener cette expérience et pour le clone BV, une seule. C'est pourquoi au total nous n'avons suivi que 39 cohortes d'une vingtaine de nouveau-nés soit au total 811 individus.

B I 2) Environnement favorable : faible densité et présence de nourriture

En parallèle, 110 nouveau-nés (10 individus par clones) ont été isolés dans des boîtes d'élevage juste après leur naissance. Une pastille de nourriture déposée au milieu de chaque boîte et remplacée régulièrement assurait un environnement "haute nourriture" (cf. expérience décrite au Chapitre 3B).

B I 3) Mesure des profils de mortalité

Une inspection régulière (deux fois par jour) a permis de déterminer avec précision le moment d'éclosion des œufs. Après que tous ont éclos, la mortalité des collembolles a été mesurée en inspectant les boîtes tous les jours pendant 3 semaines, tous les deux à 4 jours pendant les trois mois suivants et enfin toutes les semaines du 4^{ème} mois au 8^{ème} mois, date d'arrêt de l'expérience. À chaque inspection de boîte, le nombre de collembolles encore en vie était noté.

B I 4) Taille des nouveau-nés

La relation entre la taille des œufs et la taille des collembolles fraîchement éclos a été étudiée en mesurant la taille corporelle de 210 nouveau-nés provenant de 41 pontes.

B I 5) Analyses statistiques

Nous ne pouvons attribuer à chaque juvénile la taille de l'œuf dont il provient mais seulement la taille moyenne des œufs de la ponte dont il est issu. Les profils de survie ont été analysés au moyen d'un modèle de risque proportionnel de Cox (Fonction Coxph de la librairie survival, R 1.8 Ihaka & Gentleman 1996). Afin de respecter les hypothèses du modèle de Cox, nous n'avons analysé que les

80% premiers décès pour chacun des traitements (50 jours en environnement stressant ; 115 jours sous haute nourriture, Figure 56). La non-indépendance entre individus provenant d'une même ponte et conservés dans une même boîte pour l'expérience sans nourriture a été prise en compte en calculant une variance robuste (option "cluster", Therneau & Grambsch 2000). Les deux environnements ont été considérés comme des strates différentes (option "*strata*") afin de permettre l'ajustement d'une fonction de risque différente pour chacun des deux traitements.

B II Patrons d'investissement dans la reproduction

B II 1) Protocole et mesures

Afin d'étudier les patrons d'investissement dans la reproduction et le partage de cet investissement entre nombre et taille des œufs, nous avons pour chaque clone maintenu lors d'une première phase de trois mois quatre boîtes d'élevage (21cm²) à des densités élevées (~40 à 50 individus/cm²) et avec un apport de nourriture faible (1 mg de levure de bière par boîte (~800 individus) et par semaine). Nous avons ensuite prélevé dans ces boîtes pour chaque clone, 10 femelles de taille moyenne (1.47 mm, se=0.021; homogénéité entre clones: $F_{10,99} = 1.52$, $P = 0.14$). Les femelles ont été isolées dans de nouvelles boîtes d'élevage dans lesquelles une pastille de nourriture était déposée et remplacée régulièrement de sorte que les femelles se trouvaient dans un milieu à **densité minimale** et **forte disponibilité en nourriture**. Une inspection des boîtes chaque matin et chaque soir a permis de détecter avec précision chaque événement de mue et de ponte (cf. Chapitre 2B II 3)). Les œufs des pontes nouvellement trouvées étaient photographiées et mesurées (cf. Chapitre 2D II). Une mesure de taille de chaque femelle a été effectuée au début et à la fin de l'expérience (au bout de 15 jours) et la croissance des femelles a été considérée comme linéaire entre les deux mesures. Puisqu'il est impossible de connaître les caractéristiques individuelles des pontes des femelles dans les conditions de haute densité (à cause notamment de l'agrégation et du mélange des pontes), nous avons par la suite comparé les pontes pondus par les femelles juste après leur isolement à celle pondues après une certaine période permettant aux femelles de profiter des ressources présentes et d'ajuster, le cas échéant, leur stratégie de reproduction en conséquence. Cela va nous amener comme nous le verrons ci-dessous à définir et comparer deux périodes après l'isolement des femelles.



Figure 54 Les nouveau-nés ont été mesurés rapidement après leur éclosion. Il est possible de distinguer un jeune qui vient d'éclore d'un jeune de quelques heures car très vite, ces derniers ingèrent de l'argile du substrat et leur tube digestif noircit.

Tableau 11 Nombre de pontes étudiées au cours de l'expérience

Clone	Nb de femelles	Pontes	Nb. œufs	Taille de ponte moyenne
AP	10	12	618	51.5
BR	10	13	375	28.8
BV	10	5	200	40.0
DK	10	17	945	55.6
GB	10	10	401	40.1
GM	10	15	709	47.3
HA	10	7	247	35.3
PB	10	15	736	49.1
TO	10	18	761	42.3
US	10	16	857	53.6
WI	10	16	778	48.6

B II 2) Mesurer investissement et effort reproducteur

B II 2 a) L'effort reproducteur

L'**effort reproducteur**, notion fondamentale dans les théories sur l'évolution des traits d'histoire de vie (Stearns 1992), demeure d'une application empirique délicate et controversée (Shine & Schwarzkopf 1992 ; Shine, Schwarzkopf et al. 1996 ; Niewiarowski & Dunham 1998). La **proportion d'énergie disponible après ingestion investie dans la reproduction** en donne une définition opérationnelle simple. Il vaut ainsi 0 lorsque l'individu ne se reproduit pas et 1 lorsque toute l'énergie disponible est investie dans la reproduction ce qui conduit à la mort de l'individu (espèces semelpares). Le partage d'énergie entre différentes fonctions (reproduction, croissance, maintenance et survie) suppose qu'une augmentation de l'effort reproducteur à quantité d'énergie disponible constante entraîne une réduction du taux de survie ou de la fécondité future (Williams 1966). Ainsi, une mesure de l'effort reproducteur ne peut se limiter à la mesure de la quantité d'énergie allouée à la reproduction mais doit prendre en compte les conditions dans lesquelles la femelle se trouve lors de sa reproduction, c'est à dire sa **condition physiologique** (taille, corpulence, quantité de réserves), sa **condition environnementale** (qualité de l'environnement, disponibilité en ressources, ...) et éventuellement sa **condition génétique**. En effet, pour un même investissement dans la reproduction, l'effort reproducteur consenti sera d'autant plus grand que la condition physiologique de la femelle est mauvaise (petite taille, corpulence faible, peu de réserves) ou que les conditions environnementales dans lesquelles elle se trouve sont défavorables (acquisition de ressources plus difficiles...). Pour mesurer l'effort reproducteur, il est donc nécessaire de mesurer l'investissement dans la reproduction, puis de prendre en compte le contexte dans lequel cette reproduction a été effectuée.

B II 2 b) L'investissement dans la reproduction

L'**investissement absolu dans un évènement de reproduction** représente la quantité d'énergie qu'une femelle alloue à la reproduction et comprend la fabrication des gamètes ou des œufs, mais aussi des coûts associés tels que la construction de nid ou l'élevage des jeunes. Dans notre modèle biologique, il n'existe pas de soins maternels manifestes. D'autre part, nous ne disposons pas actuellement de moyen de mesurer la taille de l'appareil reproducteur (ovarioles) des femelles. Nous nous sommes donc restreints à estimer l'investissement énergétique dans la reproduction en utilisant les mesures faites sur les pontes fraîches des femelles (nombre et taille des œufs).

Mesurer l'investissement absolu dans la reproduction lors d'une ponte peut se faire simplement en mesurant la taille de ponte ; cette mesure reste cependant incomplète puisqu'elle ne tient pas compte du fait que si la taille moyenne des œufs diffère entre ponte, produire une ponte de gros œufs représente un investissement plus important que produire un même nombre d'œufs plus petits. Nous avons donc utilisé non pas le nombre d'œufs pondus mais le **volume de la ponte (investissement dans la reproduction, "IR"** en mm³ d'œuf) estimé en multipliant la taille de ponte par le volume moyen des œufs de la ponte. Une manière de prendre en compte la condition de la mère est de rapporter cet investissement à la taille de la mère (longueur ou volume). Nous avons pour cela construit un nouvel indice, **l'investissement relatif dans la reproduction**, qui est égal au volume de la ponte divisé par le volume estimé de la mère au moment de la ponte ("IRR", Proportion de volume investi dans la production d'œufs²⁴).

B II 2 c) Les taux d'investissement dans la reproduction

Les mesures décrites précédemment ne tiennent pas compte du rythme de ponte : il se peut qu'une femelle produisant de petites pontes fréquemment investisse globalement plus dans la reproduction

²⁴ Cet indice ne doit pas être interprété directement comme la proportion de volume de son corps que la femelle investit directement dans la reproduction car le volume des œufs gonfle légèrement juste après l'oviposition (cf. Chapitre 2B II 2)).

qu'une femelle produisant des pontes de plus grosse taille mais moins fréquentes. De plus, pour certaines femelles, l'intervalle entre ponte était si grand qu'aucune ponte n'a été effectuée au cours d'une ou des deux périodes²⁵. Ces femelles ne sont pas prises en compte dans les analyses limitées aux caractéristiques des pontes. Pour contourner cette difficulté nous avons mesuré un **taux d'investissement dans la reproduction** (« TIR ») en rapportant le volume cumulé d'œufs produits par chaque femelle au cours de chaque période à la durée de la période considérée (6 jours pour la première période et 8 jours pour la seconde). Dans cette mesure les femelles n'ayant pas pondu ont un TIR nul. Le TIR est exprimé en mm³ d'œuf par jour. Si l'on rapporte cette mesure au volume moyen de la femelle au cours de la période considérée, on obtient un **taux d'investissement relatif dans la reproduction** ("TIRR") exprimé en % volume/jour.

Notons qu'une mesure de l'effort reproducteur obtenue en rapportant simplement l'investissement reproducteur à la taille de la femelle ne prend pas en compte le contexte environnemental et suppose qu'investir x% de son volume dans la reproduction représente le même effort pour des femelles de tailles différentes. Or il est possible qu'une réponse non linéaire existe entre la taille des femelles et, par exemple, la capacité d'acquisition des ressources : être plus gros pourrait permettre à la fois de trouver plus rapidement et facilement la pastille de nourriture, de manger plus rapidement et d'être plus compétitif sur un lieu de nourrissage. Dans cette expérience, des femelles de tailles semblables ont été utilisées de sorte que de tels effets sont probablement limités.

B II 2 d) Une mesure de l'effort reproducteur

L'analyse du déterminisme génétique de l'effort reproducteur et de sa plasticité requiert que la mesure utilisée prenne en compte l'environnement dans lequel les femelles se reproduisent. Pour cela nous avons tout d'abord étudié l'influence de la période et de la taille de la femelle (volume estimé de la femelle au milieu de chaque période) sur d'une part, l'investissement dans la reproduction et d'autre part, le taux d'investissement dans la reproduction des femelles ayant pondu (TIR>0). Dans les deux cas il apparaît que l'investissement augmente avec la taille de la mère ; il est plus important en deuxième période (Chapitre 4C II 4)).

À partir de ces deux modèles nous avons calculé la proportion de ce que représentent l'IR et le TIR réalisés par chaque individu comparativement à l'IR et au TIR attendus pour cet individu étant donné sa taille corporelle et la période considérée (valeurs prédites par le modèle ajusté). Ces variables permettent donc de comparer l'effort reproducteur des différents clones en contrôlant l'effet de la taille maternelle et de l'environnement (période). Nous avons nommé ces variables **effort reproducteur relatif** (« ERR ») et **taux d'effort reproducteur relatif** (« TERR »), les deux variables représentant le pourcentage de l'effort attendu.

C Résultats

C I Taille des œufs et qualité des jeunes

La taille moyenne des nouveau-nés au sein d'une ponte est proportionnelle à la taille moyenne des œufs de la ponte ($R^2 = 0.39$, $F_{1,38}=29.6$, $P<0.0001$, Figure 55).

La survie des jeunes est affectée par le **traitement** ($\chi^2_1 = 170.4$, $P < 0.0001$) : en absence de nourriture, le taux de mortalité est multiplié par 6.23 (CI=[3.93, 9.9]) (Figure 56).

De plus la survie dépend d'une **interaction** entre **traitement** et **taille moyenne des œufs** ($\chi^2_1 = 36.3$, $P < 0.0001$). Dans le traitement **sans nourriture**, les jeunes issus d'œufs en moyenne plus gros survivent mieux que les jeunes issus d'œufs en moyenne petits ($z = -2.76$, $P = 0.0058$) : une augmentation de 10% du volume d'un œuf diminue le taux de mortalité du jeune de 28% [9, 43] (Figure 57, gauche). Au contraire, à **haute nourriture** et faible densité, les jeunes provenant d'œufs plus

²⁵ L'existence d'un effet "période" est analysée ci-dessous, au Chapitre 4C II 4).

gros meurent en moyenne plus tôt ($z = 3.02$, $P = 0.0025$): une augmentation de 10% de volume augmente le taux de mortalité de 40% [12, 73] (Figure 57, droite).

La survie des jeunes est aussi influencée par une **interaction** entre **traitement** et **clone** ($\chi^2_{10} = 57.5$, $P < 0.0001$). Dans l'environnement sans nourriture, la mortalité est uniforme entre clones ($\chi^2_{10} = 4.1$, $P = 0.9$) alors qu'en présence de nourriture il existe un fort effet génétique sur la mortalité ($\chi^2_{10} = 36.9$, $P < 0.0001$). Il n'a malheureusement pas été possible par manque de données de tester l'effet de la taille des œufs et des clones dans un unique modèle pour le traitement sans nourriture. Dans le traitement avec nourriture, l'effet "taille des œufs" s'estompe dès lors qu'est inclus l'effet clone ($\chi^2_1 = 0.09$, $P = 0.76$). Les clones pondant des œufs plus gros sont aussi ceux qui ont une survie réduite ; il est ainsi probable que la mortalité tardive observée ne soit pas liée à la taille des œufs elle-même mais à des différences génétiques entre clones (cf. Chapitre 5C III).

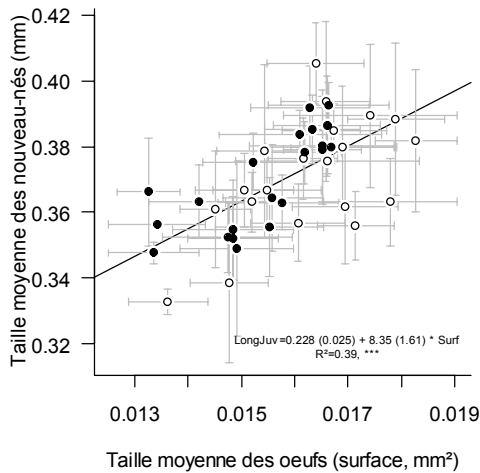


Figure 55 Taille moyenne des nouveau-nés en fonction de la taille moyenne des œufs (barres grises $\pm$ SE) pour 20 pontes de la première période (cercles vides) et 21 pontes de la deuxième période (cercles pleins). Il n'y a pas de différences entre périodes ($F_{1,38} = 2.18$, $P = 0.15$). Moyenne (se) des estimateurs des paramètres de la droite de régression (ligne continue) : $y = 0.228 (0.025) + 8.35 (1.61) x$, $R^2 = 0.39$, $P < 0.0001$.

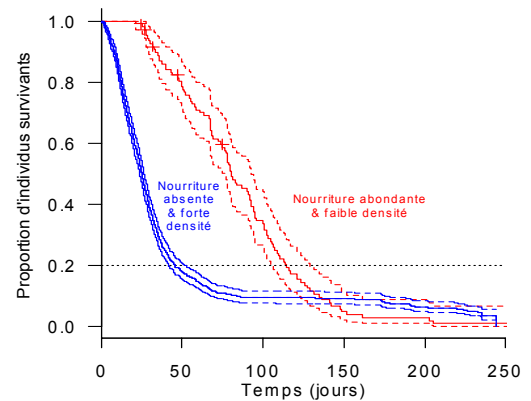


Figure 56 Courbe de survie (et intervalle de confiance à 95%) des nouveau-nés sous les deux environnements de nourriture et de densité. La ligne pointillée indique la limite des 80% des premiers décès. Les données utilisées pour l'analyse de survie sont donc celles qui se trouvent au-dessus de cette droite.

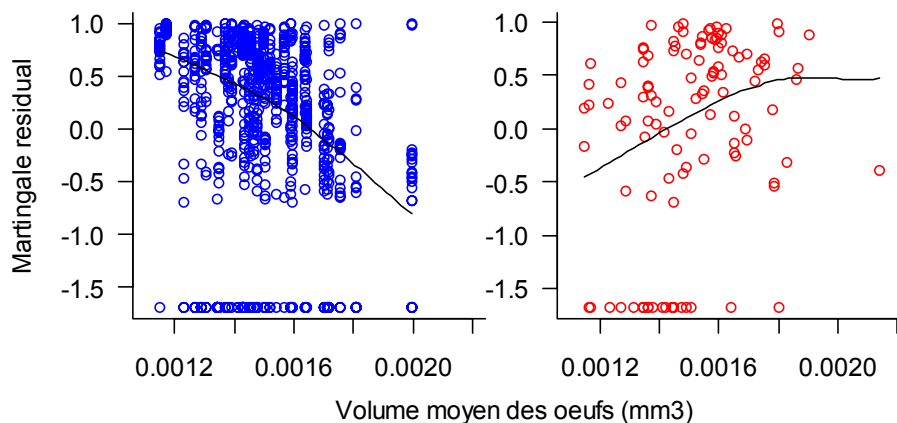


Figure 57 Représentation des effets de la taille moyenne des œufs sur la probabilité de survie des jeunes dans les deux environnements. Les résidus de martingale sont issus d'un modèle de Cox dans lequel la taille des œufs n'est pas incluse comme covariable. Le fait que les résidus sont structurés en fonction de la taille des œufs souligne la relation qui existe entre taille des œufs et survie des jeunes, relation matérialisée par l'ajustement d'une régression polynomiale locale (fonction *scatter.smooth* de R). En absence de nourriture (gauche, bleu), plus les œufs sont gros, plus les résidus sont petits et donc plus le taux de mortalité de ces œufs est réduit par rapport à la mortalité prédite par le modèle. La relation s'inverse lorsque de la nourriture est présente (droite, rouge).

C II Nombre et taille des œufs

C II 1) Effet de l'âge

Notre protocole expérimental rend la réponse au changement environnemental indissociable de l'âge. Néanmoins, les données de l'expérience sur l'effet de la nourriture, dans laquelle l'âge des collemboles est précisément connu, nous renseignent sur l'effet direct de l'âge des jeunes femelles sur la taille de ponte ou la taille des œufs. Pour les femelles de moins de 4 mois - ce qui correspond à l'âge des femelles que nous avons utilisées dans cette expérience - l'âge n'a pas d'influence sur la taille des œufs ($\chi^2_1 = 0.39$, $P = 0.53$). En revanche il existe un effet significatif de l'âge sur la taille de ponte même lorsqu'on tient compte du traitement de nourrissage et de la taille de la femelle ($\chi^2_1 = 128.5$, $P < 0.0001$). Cet effet additif est négatif, c'est à dire que les femelles étudiées (de moins de quatre mois) produiront des pontes d'autant plus petites par rapport à leur taille qu'elles sont plus âgées (sénescence reproductive, cf. Chapitre 5C II 4), page 128).

C II 2) Intervalle entre pontes

L'intervalle moyen entre deux pontes est de 6.9 jours (se=0.11, min=5.8 jours). Cet intervalle augmente avec la taille de la femelle ($1.6 + 3.2 \cdot \text{longueur (mm)}$, $\chi^2_1 = 37.9$, $P < 0.0001$, Figure 58) quel que soit le clone ($\chi^2_7 = 12.7$, $P = 0.078$). Le volume de la ponte ou le volume relatif de la ponte ne dépendent pas de cet intervalle ($P > 0.68$).

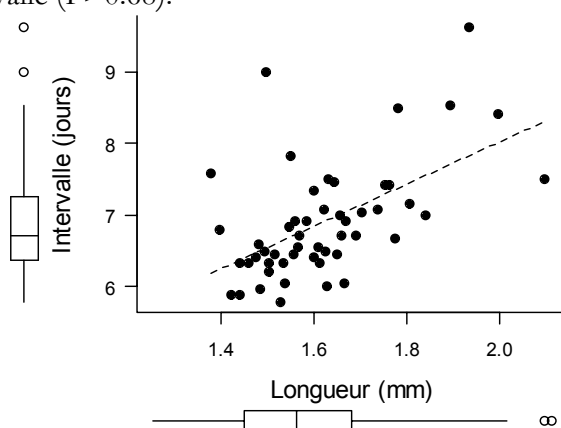


Figure 58 Intervalle entre pontes en fonction de la longueur maternelle.

C II 3) Rythme de ponte et de mues

Conformément aux travaux de Palévody (1974, cf. Figure 8), nous avons observé que dans la plupart des cas (87,5%), deux pontes successives sont séparées par deux mues. Dans 8% des cas, une seule mue a été observée mais il est alors possible que cela soit dû à une erreur d'observation (mue non observée ou bien mangée par le collembole). Enfin, dans 4,5% des cas, trois mues séparent les deux pontes. Il faut aussi remarquer que pour certains collemboles, trois ou quatre mues ont été effectuées successivement sans que le collembole ne se reproduise ensuite, dans la durée de l'expérience (Figure 59). Ainsi, il semble qu'il faille au minimum deux mues avant de faire une nouvelle ponte mais les collemboles peuvent muer plus de deux fois entre deux reproductions. La ponte suit rapidement la deuxième mue, après environ 15 heures (médiane=0.62 jours, CI 75%[0.37;0.91]). L'intervalle entre la ponte et la mue stérile suivante est légèrement plus court (médiane =3.0 jours CI 75%[2.5-3.6]) qu'entre deux mues au sein d'un cycle (médiane=3.5 jours, CI 75%[2.9; 4.0]). On peut remarquer que l'intervalle entre mues est globalement constant, et est d'environ 3,5 jours à 21°C en présence de nourriture.

L'intervalle entre mues diffère en fonction des clones ($F_{10, 100} = 3.12$, $P = 0.0016$) mais cet effet n'est dû qu'au clone GB qui mue moins souvent que les autres clones (4,6 jours, Figure 59, droite). Sans ce clone, les autres ne diffèrent pas significativement entre eux ($F_{9, 95} = 1.92$, $P = 0.057$).

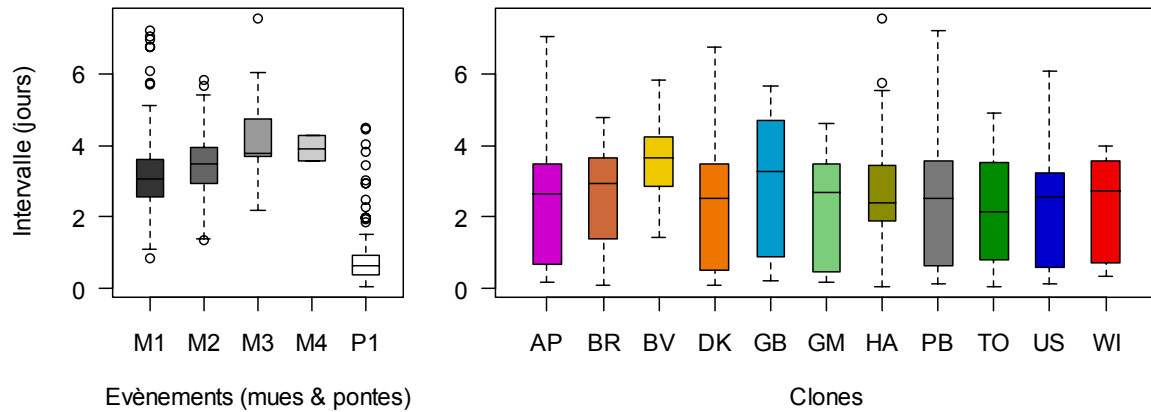


Figure 59 Intervalles entre mues et pontes. À gauche : intervalle séparant la première mue (M1) de la dernière ponte (P1), la deuxième mue (M2) de la première mue (M1), etc., et la ponte (P1) de la dernière mue (en général M2); À droite : Intervalle entre mues stérile et fertile en fonction des clones.²⁶

C II 4) Réponse temporelle et effet période

La fécondité des femelles (corrigée pour leur taille corporelle) semble changer brutalement entre 6 et 7 jours après le début de l'expérience (courbe pleine, Figure 60). Afin de vérifier l'existence d'une telle discontinuité, nous avons comparé deux modèles linéaires mettant en relation la taille de ponte avec un effet clone, un effet taille corporelle et un effet temps ($Taille\ de\ ponte \sim longueur + Clone + Temps$). Dans le premier modèle, le temps est mesuré comme une variable continue depuis le début de l'expérience (entre 0 et 15 jours). Dans le second modèle, la durée de l'expérience a été divisée en deux périodes et le temps a été indexé par la période correspondante. Nous avons comparé les deux modèles par la somme des carrés des écarts aux observations et en faisant varier la limite séparant les deux périodes entre 0 et 15 jours. Le modèle avec l'effet période explique mieux les données observées que le modèle avec l'effet temps continu dès lors que la limite entre les deux périodes se trouve autour de 6 jours (courbe tiretée rouge de la Figure 60). Ceci nous a donc conduit à distinguer par la suite **deux périodes**, avant (P1) et après 6 jours (P2). Il est remarquable que cette période corresponde exactement à l'intervalle moyen mesuré entre deux pontes.

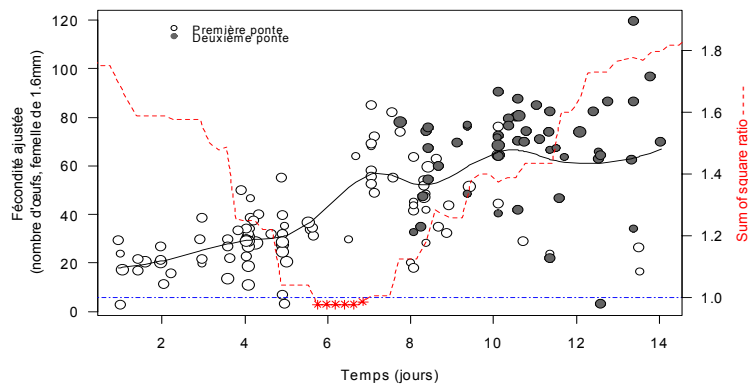


Figure 60 Taille de ponte (ajustée pour une femelle de 1.6 mm) en fonction du temps mesuré à partir du changement abrupt de condition environnementale. En cercles vides, les premières pontes, en cercles grisés, les deuxièmes pontes. La surface des cercles est proportionnelle au nombre d'œufs pondus. Courbe pleine: fonction spline lissée ajustée à l'ensemble des données. La taille de ponte augmente de manière abrupte après environ 6 jours. Cette discontinuité est mise en évidence en comparant deux modèles prenant en compte un effet continu ou discret du temps. La courbe rouge pointillée représente le rapport des sommes des carrés des deux modèles. Lorsque ce rapport est inférieur à un (étoiles), le modèle discrétisant le temps en deux périodes explique mieux les données.

²⁶ Les diagrammes en boîte à moustache.

Tableau 12 Résultats des modèles de l'investissement dans la reproduction (en volume d'œuf, mm³) par ponte ou par jour en fonction de la période et du volume estimé de la mère. Dans les deux cas il n'y a pas d'interaction Période*Volume de la mère. Les résultats indiqués pour les effets simples proviennent des modèles sans interaction.

	Investissement dans la reproduction (IR)				Taux d'investissement dans la reproduction (TIR)			
	Estimateur	F	ddl	P	Estimateur	F	ddl	P
Intercept	-0.07558				-0.006672			
2 ^{ème} Période	0.04840	18.872	1,139	<0.0001	0.005123	37.58	1,136	<0.0001
Volume de la femelle (mm ³)	0.38749	91.64	1,139	<0.0001	0.04498	7.57	1,136	0.0067
Période x Volume		0.5601	1,138	0.455	-0.014367	0.1884	1,135	0.665

C III Investissement et effort reproducteur

C III 1) Les pontes

○ Probabilité de pondre

Au cours de notre suivi, les femelles ont pondu entre zéro et deux pontes. La probabilité de pondre ne diffère pas entre périodes ($\chi^2=1.04$, $df=1$, $P=0.31$) ni globalement entre clones (Clone $\chi^2=16.7$, $df=10$, $P=0.08$).

Dans la suite, nous étudions les caractéristiques des événements de reproduction en écartant les femelles n'ayant pas pondu.

○ Taille de la mère

Au cours de chaque période et pour chaque clone, la taille de ponte, l'investissement reproducteur (IR, volume de la ponte) ainsi que l'investissement reproducteur relatif (IRR) augmentent avec la taille de la femelle et ces relations sont parallèles entre périodes et entre clones (Période*Longueur de la femelle : $\chi^2<0.97$, $ddl = 1$, $P > 0.32$; Clone*Longueur de la femelle: $\chi^2 < 7.9$, $ddl = 10$, $P > 0.64$, Figure 61 A).

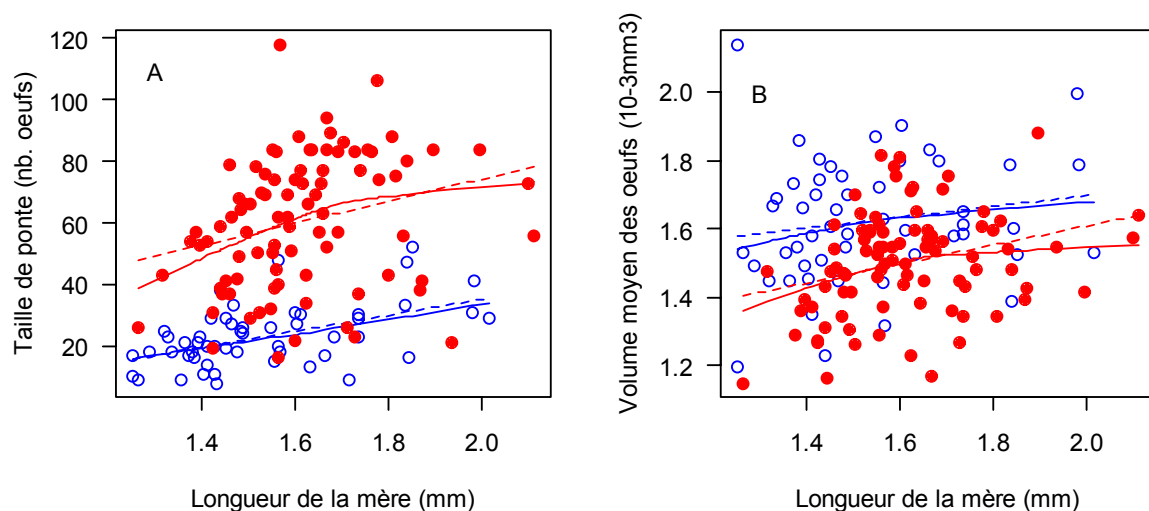


Figure 61 Taille de ponte (à gauche, A) et volume des œufs (à droite, B) augmentent avec la longueur de la mère de manière similaire entre période. Points bleus vides : première période; points rouges pleins : 2^{ème} période. Les droites de régression (pointillées) et courbes spline (continues) sont ajustées aux données à chaque période.

○ Période

La taille des pontes, l'IR et l'IRR augmentent après 6 jours (effet période $\chi^2_1 > 113$, $P < 0.0001$) : au cours de la deuxième période la taille de ponte est en moyenne 2.5 fois plus élevée qu'en première période ce qui correspond à une production moyenne de 36 œufs supplémentaires par ponte. La taille moyenne de ponte en première période est ainsi de 23.6 œufs (SE=2.4) ; elle est de 60.3 œufs (se=1.9) en deuxième période ($\chi^2_1=9.67$, $P=0.0018$, Figure 61 A).

D'autre part, la fécondité ajustée, l'IR et l'IRR augmentent avec le temps au cours de la première période mais pas ensuite (Période $\times$ Temps: $\chi^2_1 > 6.7$, $P < 0.01$, Temps au sein de P1: $\chi^2_1 > 13$, $P < 0.0003$, Temps au sein de P2: $\chi^2_1 < 2.27$, $P > 0.13$). Cet effet est clairement visible sur la Figure 60.

○ Génétique

La taille de ponte, l'IR, l'IRR et l'ERR diffèrent entre clones ($\chi^2_{10} > 36$, $P < 0.0001$) mais nous n'avons pas pu mettre en évidence d'interaction entre effet génétique et période ($\chi^2_8 < 12.9$, $P > 0.11$). Cette absence d'héritabilité de la flexibilité pourrait être un artéfact dû au manque de puissance pour détecter l'interaction. En effet, les clones HA et BV n'ont chacun produit qu'une seule ponte en première période. Ces données n'ont pas été prise en compte dans l'analyse, les distances de Cook associées à ces observations étant trop grandes (> 0.1)²⁷.

Cependant, l'étude séparée des deux périodes montre qu'en première période les caractéristiques des pontes ne diffèrent pas entre clones ($\chi^2_1 < 0.79$, $P > 0.37$, Tableau 13), tandis qu'en deuxième période une forte variance génétique s'exprime sur ces caractéristiques ($\chi^2_1 > 10.6$, $P < 0.001$, Tableau 13 et Figure 62).

Tableau 13 Héritabilité de la flexibilité et de la valeur des différentes mesures d'investissement reproducteur au cours des deux périodes. Les valeurs des héritabilités sont indiquées avec les intervalles de confiances associés.

Variable	Test (ddl=1)	Flexibilité		Période 1		Période 2	
		Médiane	IC 95%	Test (ddl=1)	Test (ddl=1)	Médiane	IC 95%
Taille de ponte	$\chi^2=1.87$, $P=0.17$	18.5	0.0-52.2	$\chi^2=0.79$, $P=0.37$	$\chi^2=10.65$, $P=.001$	42.1	14.1-66.7
Investissement reproducteur (IR)	$\chi^2=2.77$, $P=0.09$	23.1	0.0-56.3	$\chi^2=.0016$, $P=0.97$	$\chi^2=15.1$, $P=.0001$	47.7	19.4-69.2
Investissement reproducteur relatif (IRR)	$\chi^2=2.50$, $P=0.11$	22.2	0.0-55.4	$\chi^2=.0016$, $P=0.97$	$\chi^2=14.7$, $P=.0001$	46.7	18.5-68.0
Effort reproducteur relatif (ERR)	$\chi^2=1.37$, $P=0.24$	20.7	0.0-44.8	$\chi^2=.0017$, $P=0.97$	$\chi^2=14.6$, $P=.0001$	46.4	18.3-67.6
Taux d'investissement dans la reproduction (TIR)	$\chi^2=24.4$, $P<.0001$	35.1	18.0-49.8	$\chi^2=0.23$, $P=.89$	$\chi^2=34.1$, $P<.0001$	48.2	30.6-63.2
Taux d'investissement relatif dans la reproduction (TIRR)	$\chi^2=23.2$, $P<.0001$	34.5	18.2-49.8	$\chi^2=.26$, $P=.88$	$\chi^2=34.6$, $P<.0001$	47.9	30.1-63.4
Taux d'effort reproducteur relatif (TERR)	$\chi^2=9.28$, $P=.0023$	24.4	7.3-39.1	$\chi^2=.43$, $P=.80$	$\chi^2=33.7$, $P<.0001$	47.4	29.5-63.0

C III 2) Effort reproducteur intégré

○ Taille des mères

Lorsqu'on s'intéresse aux taux d'investissements dans la reproduction (TIR, TIRR et TERR), les femelles ne se reproduisant pas sont prises en compte et il est alors possible d'utiliser les données des

²⁷ Si les deux pontes sont prises en compte, la flexibilité devient héritable ($\chi^2_1 > 5.71$, $P < 0.017$).

11 clones sur les deux périodes. Ni le TIR ($\chi^2_1=0.14$, $P=0.70$), ni le TIRR ($\chi^2_1=2.27$, $P=0.13$), ni le TERR ($\chi^2_1=3.2$, $P=0.073$) ne sont influencés par la taille moyenne de la mère.

○ Période

Les TIR et TIRR augmentent fortement en seconde période ($\chi^2_1=11.7$, $P=0.0006$, Figure 62) alors que par construction le TERR est indépendant de la période.

○ Génétique

Pour les trois mesures (TIR, TIRR, TERR) existe une interaction significative des effets clone et période ($\chi^2_1>9.2$, $P<0.0024$), c'est à dire que la flexibilité des taux est héritable (Tableau 13).

De même que pour les mesures effectuées sur les pontes, aucune variance génétique n'est détectée sur les taux en première période ($\chi^2_1<0.43$, $P>0.80$) alors que de fortes héritabilités sont mises en évidence au cours de la seconde période ($\chi^2_1>33$, $P<0.0001$, Tableau 13). Un tel phénomène se caractérise graphiquement par un déploiement en éventail des normes de réaction (Figure 62).

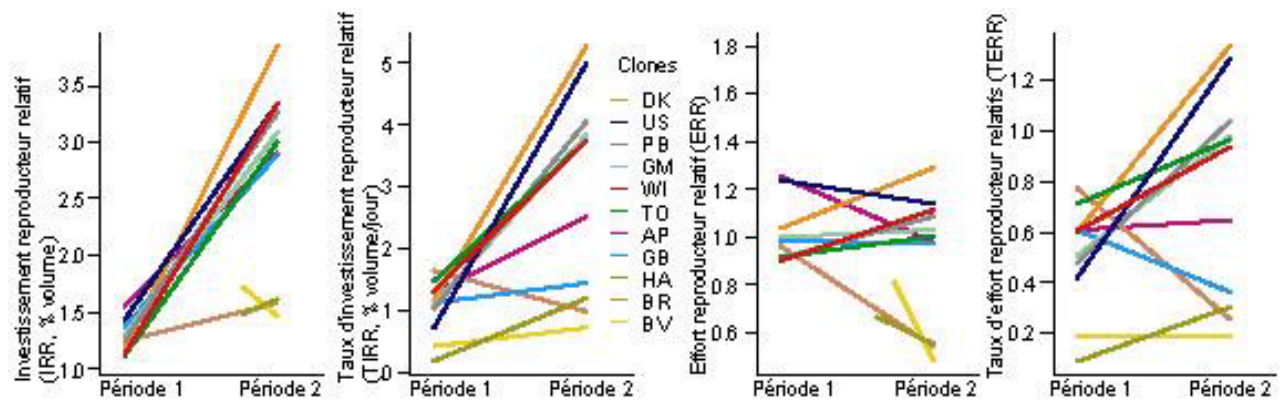


Figure 62 Normes de réactions pour l'IRR, le TIRR, l'ERR et le TERR. Les données de HA et BV pour la première période ne sont pas représentées (manque de mesures pour les IRR et les ERR).

C III 3) Taille des œufs

○ Taille des mères et période

La taille des œufs est influencée par la taille de la mère et par la période : les œufs produits au cours de la deuxième période sont plus petits (-7,5% en volume, Tableau 14) que ceux produits au cours de la première période ($\chi^2_1 = 30.7$, $P < 0.0001$). Les mères plus grosses produisent des œufs plus gros ($\chi^2_1 = 9.01$, $P = 0.003$) et ceci de manière similaire entre les deux périodes ($\chi^2_1=0.10$, $P=0.75$, Figure 61 B).

Tableau 14 Éléments de biométrie des œufs pondus lors des périodes 1 (forte densité-faible nourriture) et 2 (faible densité-forte nourriture), tous clones confondus avec intervalles de confiance à 95%

	Diamètre	Section	Volume
1 ^{ère} période	0.1448 mm [0.14435 - 0.14518]	0.01648 mm ² [0.016386 - 0.016573]	0.001597 mm ³ [0.0015838 - 0.0016106]
2 ^{ème} période	0.1420 mm [0.1417 - 0.1423]	0.01586 mm ² [0.015797 - 0.015921]	0.001507 mm ³ [0.0014984 - 0.0015163]
Moyenne	0.1427mm [0.1314 - 0.1544] CV=4.8%	0.0160 mm ² [0.0135 - 0.0187] CV=10%	0.00152 mm ³ [0.00118 - 0.00192] CV=14.6%

○ Effets génétique

Il n'existe pas de variance génétique sur la flexibilité de la taille des œufs ($\chi^2_1=0.01$, $P=0.92$) mais la taille est œufs héritable sur les deux périodes ($\chi^2_1=35.7$, $P<.0001$, $h^2=25.5\%^{28}$). Ceci est représenté par les normes de réaction parallèles des différents clones (Figure 64). On peut d'autre part remarquer que les clones AP, BR, BV et HA pondent des œufs en moyenne plus petits que les autres clones.

○ Partage de l'effort reproducteur

La taille de ponte (contrôlée pour la taille de la mère) influence le volume moyen des œufs différemment entre les deux périodes ($\chi^2_1 = 6.14$, $P = 0.013$) : au cours de la première période la taille moyenne des œufs diminue lorsque la taille de ponte augmente ($\chi^2_1 = 4.00$, $P = 0.045$) alors qu'au cours de la seconde période, les femelles produisant de grosses pontes produisent aussi des œufs plus gros ($\chi^2_1 = 5.76$, $P = 0.016$, Figure 63 A). Cette variance phénotypique globale a été décomposée en variance génétique (Figure 63 C) et variance résiduelle (variance phénotypique intra-clone, Figure 63 B). Nous n'avons pas pu mettre en évidence une quelconque relation entre taille de ponte et taille des œufs dès lors que l'on tient compte des différences génétiques entre clones, de la taille corporelle de la mère et de l'effet période ($\chi^2_1 = 0.07$, $P = 0.79$, Figure 63 B) : aucun compromis physiologique intra-clone entre nombre et taille des œufs n'est observable. En revanche, l'étude des valeurs génétiques (résidus de l'effet aléatoire clone d'un modèle mixte) de la taille des œufs et de la taille de ponte révèle une relation significative entre taille des œufs et taille de ponte, qui diffère entre les périodes ($F_{1,16}=15.5$, $P = 0.0012$). Alors qu'en première période les clones qui produisent les plus grosses pontes produisent les plus petits œufs ($F_{1,7}=13.28$, $P = 0.0082$), au cours de la deuxième période la relation s'inverse et les clones produisant les pontes les plus nombreuses produisent en même temps des œufs plus gros ($F_{1,9} = 8.77$, $P=0.016$, Figure 63 C). Cette interaction est reflétée par une inversion des corrélations génétiques entre nombre et taille des œufs, la corrélation étant négative en première période ($\text{cor}=-0.81$ [-0.96,-0.31], $t = -3.64$, $df = 7$, $P = 0.0082$) et positive en seconde ($\text{cor} = 0.70$ [0.18, 0.92], $t = 2.96$, $df = 0$, $P = 0.016$, Figure 63 C).

Enfin, si l'on tient compte des femelles n'ayant pas pondu, en utilisant par exemple le taux d'investissement dans la reproduction (TIR), on n'observe plus d'interaction entre période et TIR sur la taille des œufs ($F_{1,18}=0.104$, $P=0.75$) mais un simple effet positif du TIR ($F_{1,18}=13.5$, $P=0.0016$). Cependant, alors qu'une corrélation génétique positive est mise en évidence en seconde période ($\text{cor} = 0.87$ [0.56; 0.96], $t = 5.22$, $df = 9$, $P = 0.00054$, Figure 63 D), aucune corrélation génétique n'apparaît en première période ($\text{cor} = 0.14$ [-0.50;0.68], $t = 0.44$, $df = 9$, $P = 0.67$). Le fait que les intervalles de confiance de ces deux corrélations ne se chevauchent que très légèrement indique qu'à nouveau la pente de la corrélation génétique change entre périodes.

Tableau 15 Corrélations génétiques entre volume moyen des œufs et différentes mesures de l'investissement dans la reproduction.

	Première période				Seconde période			
	Cor [95%CI]	t	df	P	Cor [95%CI]	t	df	P
Taille de ponte	-0.81 [-0.96;-0.32]	-3.64	7	0.0082	0.70 [0.18;0.92]	2.96	9	0.016
IR	-0.56 [-0.89; 0.17]	-1.77	7	0.12	0.83 [0.46;0.95]	4.51	9	0.0015
Reproductive effort	-0.55 [-0.89;0.18]	-1.73	7	0.13	0.83 [0.45; 0.95]	4.44	9	0.0016
Rate of reproductive effort	-0.56 [-0.89;0.16]	-1.81	7	0.11	0.85 [0.51; 0.96]	4.83	9	0.00093
Rate of relative reproductive investment	0.14 [-0.50;0.68]	0.44	9	0.67	0.87 [0.56; 0.96]	5.22	9	0.00054

²⁸ La valeur d'héritabilité de taille des oeufs est ici inférieure à celle mesurée au Chapitre 3C II 2 c), page 65 (>40%). Mais ici l'héritabilité concerne celle de la taille des œufs alors que page 65, il s'agissait de l'héritabilité de la taille moyenne des œufs par ponte. Le calcul de cette dernière ne prend pas en compte la variabilité intraponte de taille des œufs qui est, comme nous le verrons, très importante (~50% de la variabilité totale).

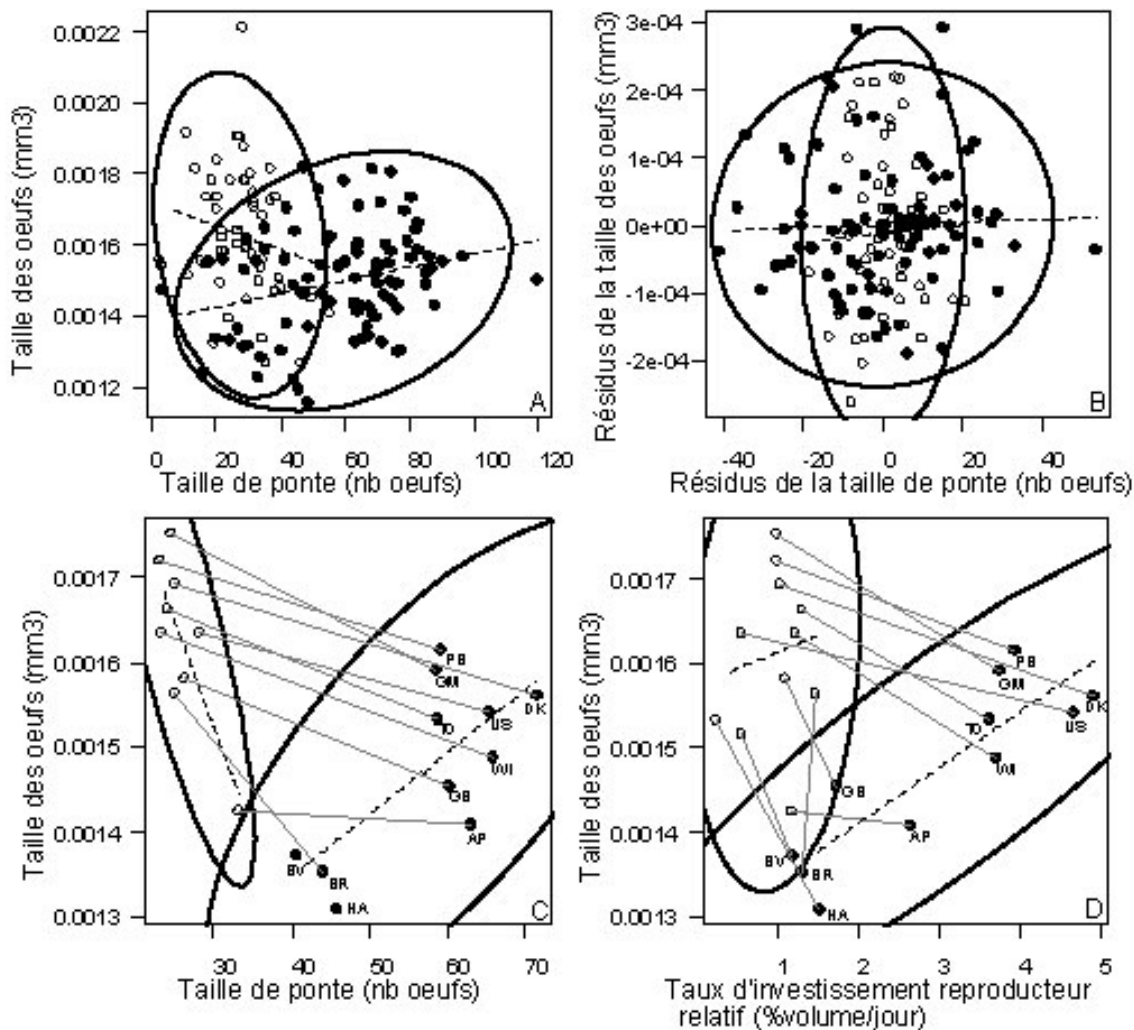


Figure 63 Relation entre investissement dans la reproduction et partage de cet investissement entre nombre et taille des œufs. En clair, les données concernant la première période, en noir, la seconde. Les ellipses représentées englobent 95% des observations attendues. Taille de ponte et Taille des œufs sont les valeurs corrigées pour la taille de la femelle et mises à l'échelle d'une femelle de 1.6 mm de long. Les tiretets matérialisent la droite de régression de la taille des œufs en fonction de la taille de ponte (ou TIRR). En A sont représentées les valeurs mesurées pour chaque événement de ponte dont l'ensemble correspond donc à la corrélation phénotypique globale entre taille des œufs et taille de ponte. La variance phénotypique globale est décomposée en variance génétique et variance résiduelle intra-clone. En B, sont représentés les résidus intraponte de cette décomposition et en C, les résidus au niveau du clone (auxquels sont additionnées les valeurs prédites des effets fixes pour une femelle de 1.6 mm). En D, sont représentés les effets génétiques sur le TIRR. En C, les valeurs des clones HA et BV pour la première période ne sont pas représentées par manque de données.

C III 3 a) Fertilité des œufs

La proportion d'œufs stériles a été transformée selon une formule recommandée pour les proportions faibles (Zar 1999) :

$$p' = \arcsin(\text{racine}((\text{stériles} + 3/8) / (\text{Stériles} + \text{Fertiles} + 3/4))).$$

Ni la période ($\chi^2_1 = 0.59$, $P = 0.44$), ni la taille de ponte ($\chi^2_1 = 0.71$, $P = 0.40$) n'affectent la proportion d'œufs stériles mais celle-ci varie entre les différents clones ($\chi^2_{10} = 24.6$, $P = 0.006$).

Les clones AP, BR, BV, GB et HA ont une proportion d'œufs stériles assez forte alors que les clones DK, GM, PB, TO US et WI produisent des pontes dont la quasi-totalité se développent.

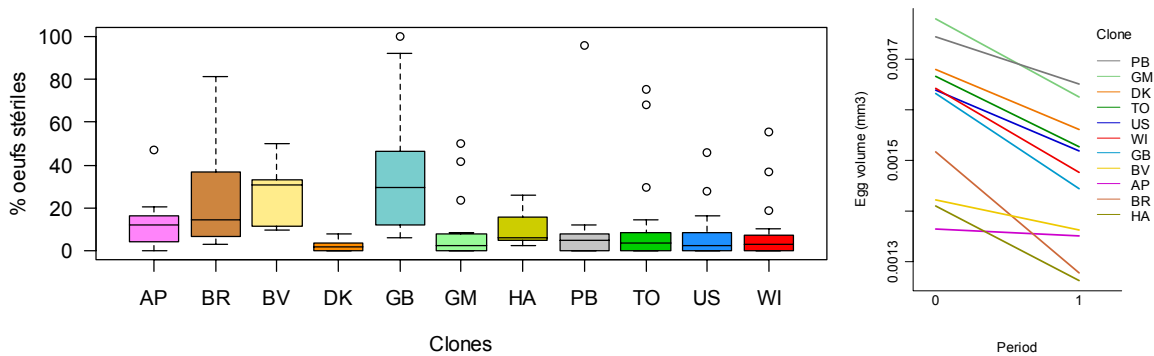


Figure 64 À gauche, la proportion d'œufs stériles pour chaque clone. Les clones à haute fécondité sont aussi ceux qui ont le taux d'œufs stériles le plus bas. À droite, volume moyen des œufs dans les deux période (0 : première période, 1 : deuxième période) pour chacun des clones.

C III 3 b) Variance de taille intraponte

Au sein de chaque ponte les œufs produits par une femelle sont de taille variable. Cette variabilité est très importante puisqu'elle représente 50 % de la variance globale mesurée sur la taille des œufs. La variance intraponte augmente avec la taille moyenne des œufs pondus ($\chi^2_1=37.03$, $P<0.0001$). Afin de s'affranchir de cet effet, nous avons par la suite modélisé le coefficient de variation de la taille des œufs (CVW) plutôt que la seule variance. Ce CVW varie lui même entre les clones ($\chi^2_1 = 102.9$, $P < 0.0001$ $h^2=14\%$, Figure 65) mais ne dépend pas de la période ($\chi^2_1 = 0.001$, $P = 0.96$). Lorsqu'on tient compte de ces différences entre clones, le CVW est indépendant de la taille de la mère ($\chi^2_1 = 0.96$, $P = 0.32$) ou de la taille de ponte elle-même ($\chi^2_1 = 3.48$, $P = 0.062$). Cependant le coefficient de variation de la taille de œufs tend à augmenter avec la taille moyenne des œufs pondus ($\chi^2_1 = 3.90$, $P = 0.048$). Aucune corrélation génétique n'a pu être mise en évidence entre ce coefficient de variation et la taille de ponte, la taille moyenne des œufs, ou les différentes mesures d'investissement dans la reproduction ($P>0.24$).

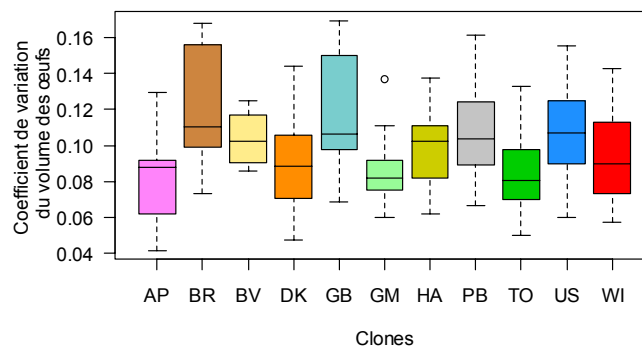


Figure 65 Coefficient de variation du volume des œufs pour chaque clone.

D Discussion

○ Des tailles d'œufs très variables

L'évolution de la taille des œufs dépend de l'intensité de la sélection qui elle-même varie en fonction des conditions environnementales. La sélection est généralement plus intense lorsque les conditions environnementales se dégradent (Fox 2000 ; Heath, Heath et al. 2003). Mais l'évolution, pour avoir lieu, requiert aussi qu'une partie au moins de la variance de taille des œufs observée ait un déterminisme génétique et ne soit pas uniquement due à des effets maternels ou environnementaux. Les mesures d'héritabilité de la taille des œufs sont rares mais existent pour quelques groupes tels que les oiseaux (Larsson & Forslund 1992 ; Potti 1993 ; Christians 2002) ou des insectes (Fox 1994 ; Fox,

Czesak et al. 1999). Sans ces mesures, interpréter un changement de taille d'œufs comme une réponse adaptative, et pas seulement comme l'expression d'une plasticité est délicate (Fox 2000 ; Beacham 2003 ; Fleming, Einum et al. 2003 ; Fox & Heath 2003 ; Heath, Heath et al. 2003 ; Heath, Moya-Larano et al. 2003).

Les œufs pondus par *Folsomia candida* sont de taille très variable (Figure 66). Cette variabilité a comme nous l'avons vu plusieurs origines. La moitié de la variation de taille d'œufs provient de différences de taille d'œufs au sein d'une même ponte. Cette proportion semble particulièrement importante. Chez les oiseaux, par exemple cette proportion ne dépasse généralement pas 30% (Christians 2002). La moitié de variation restante provient pour moitié de différences génétiques de tailles d'œufs entre clones et l'autre moitié de différences de taille d'œufs entre pontes. Cette décomposition de la variance indique tout d'abord que la taille des œufs est un trait héritable et peut donc potentiellement être sélectionné et évoluer. Elle indique d'autre part qu'il existe une certaine flexibilité dans l'expression de ce trait au sein même d'un génotype et on peut dès lors se demander quels sont les facteurs qui vont déterminer ces variations de taille.

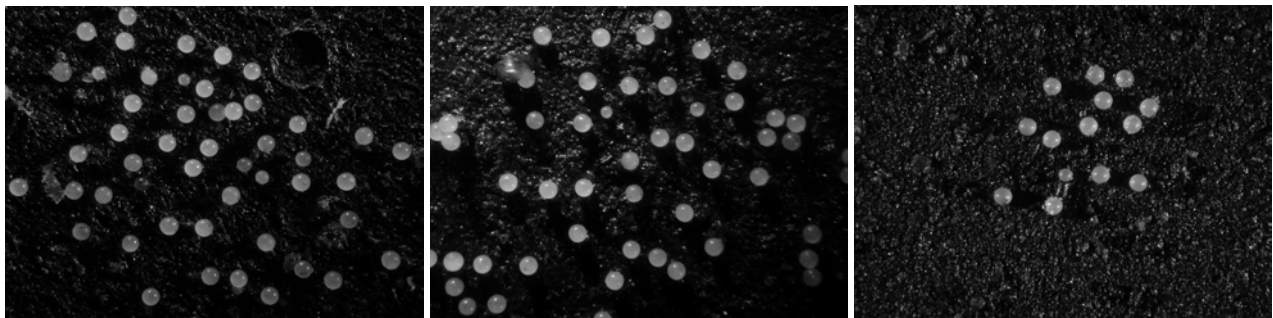


Figure 66 Différentes pontes des femelles AP3+, DK0+ et AP6- illustrant les différences de taille et de nombre d'œufs.

○ Conflit ou mutualisme mère – jeune?

Le partage des ressources entre un nombre plus ou moins grand de jeunes plus ou moins gros est souvent considéré comme résultant d'un conflit d'intérêts entre mères et enfants : alors que chaque jeune a intérêt à ce que leurs parents investissent un maximum de ressources en eux, la mère doit ajuster au plus prêt la quantité d'énergie allouée à chaque jeune afin de maximiser le nombre de jeunes produits. La taille des œufs est-elle sous contrôle des jeunes ou bien des mères ? Il est bien évidemment impossible de répondre avec certitude à cette question dont le sens est lui-même discutable étant donné que dans les deux cas la taille des œufs reste contrôlée par le même programme génétique. Dans notre exemple biologique, le fait que les mères et toutes leurs filles partagent exactement le même génome, cette notion de conflit perd son sens du point de vue évolutif car tous les individus partagent le même intérêt génétique. Cependant il semble plus parcimonieux d'expliquer la très forte variabilité de taille des œufs que nous avons mise en évidence (elle même en partie sous contrôle génétique $h^2=14\%$) par un contrôle maternel. En effet, un contrôle de la taille des œufs par les juvéniles supposerait l'existence d'un processus de développement aléatoire au sein d'un même génotype.

○ Taille et qualité des jeunes

Nous avons montré qu'en absence de nourriture et à densité élevée, les individus nés en moyenne de gros œufs, et qui sont donc plus grands à la naissance, survivent plus longtemps que ceux qui sont issus d'œufs plus petits. Les œufs plus gros sont sans doute constitués d'une grande quantité de réserves qui permettent aux nouveau-nés plus gros de survivre plus longtemps en l'absence de nourriture. Cette relation a souvent été observée (Berrigan 1991 ; Fox & Czesak 2000) mais n'est pour autant pas systématique : chez un rotifère bdelloïde, la taille des œufs ne semble pas améliorer la survie des jeunes dans des conditions difficiles (Santo, Caprioli et al. 2001).

Mais dès lors que la nourriture est abondante et la densité réduite, tous les jeunes collemboles survivent et atteignent l'âge à maturité. En présence de nourriture, la survie est donc non seulement fortement améliorée mais l'effet de la taille des œufs s'estompe et s'inverse même puisque l'on observe que les collemboles provenant de pontes composées d'œufs plus gros meurent en moyenne plus tôt que les autres collemboles. L'impact de la taille des œufs sur la valeur sélective varie donc en fonction des conditions environnementales (Fox, Thakar et al. 1997)

Dans l'environnement favorable, la mortalité fait suite à une période de forte croissance et de reproduction, ce qui gomme très certainement les effets maternels de la taille des œufs. Il semble donc peu probable que dans ces conditions environnementales, il y ait une relation de causalité directe entre la taille des œufs elle-même et la mortalité tardive des individus. Nous avons montré par ailleurs que les clones diffèrent quant à la taille moyenne des œufs qu'ils produisent : les clones produisant de gros œufs sont aussi ceux qui ont un vieillissement accéléré et les données semblent indiquer que l'augmentation de la mortalité associée à des œufs plus gros dans les conditions environnementales favorables reflète essentiellement des différences de longévité entre clones, différences qui seront détaillées dans le chapitre suivant (cf. Chapitre 5C III 2)).

Dans un tel contexte, il est avantageux pour une femelle de produire des jeunes plus gros lorsque les conditions environnementales sont mauvaises ; ce n'est plus le cas lorsque les conditions s'améliorent.

○ Une flexibilité adaptative

Tous les clones ont répondu au changement concomitant de densité et de disponibilité des ressources par un ajustement de la taille des œufs produits. Cet ajustement semble bien représenter une réponse adaptative puisqu'il correspond au sens du changement de la taille d'œuf optimale prédit entre les deux environnements : lorsque la densité est élevée et les ressources rares, il est avantageux de produire des jeunes plus gros qui survivront mieux alors que lorsque la densité est réduite et les ressources abondantes, produire des œufs plus gros n'apporte pas d'avantage en terme de survie. Les femelles de *Folsomia* sont donc capables d'apprécier la qualité de leur environnement et d'utiliser cette information pour réguler de manière adaptative la taille des jeunes qu'elles vont produire. Cette flexibilité est extrêmement rapide puisque le changement de stratégie d'allocation de ressource s'effectue en une semaine. Le même type d'ajustement de taille d'œufs a déjà été mis en évidence chez le charançon *Stator limbatus* (Fox, Thakar et al. 1997).

Dans notre expérience, s'il existe une variance génétique sur la taille des œufs, il ne nous a pas été possible de mettre en évidence de variance génétique sur la flexibilité de cette taille. Cela peut résulter de la force et de la constance de la pression de sélection favorisant cette flexibilité qui auraient éliminé toute la variance génétique associée à ce trait.

○ Phénologie de la reproduction

Nous avons vu que l'intervalle entre ponte augmente avec la taille des mères, ce qui pourrait être lié à un ralentissement du rythme des mues lorsque la croissance ralentit. Cependant nous n'avons pas pu mettre en évidence de lien entre cet intervalle et l'investissement dans la reproduction qui suit. On aurait pu imaginer que retarder une ponte aurait été mis à profit par l'individu pour accumuler plus de ressources et produire une ponte plus grosse mais cela ne semble pas être le cas chez cette espèce. Pour un certain nombre de femelles, l'intervalle entre pontes était si long qu'il n'a pas été possible de le mesurer au cours de cette expérience étant donné que 51 femelles n'ont pondu qu'une fois, et 16 individus n'ont pas pondu. La phénologie de la reproduction semble donc bien plus variable que ce que nous avons pu mesurer et il serait nécessaire de conduire un suivi sur une plus longue période pour pouvoir la décrire avec précision et en analyser ses patrons de variation.

Globalement la phénologie de la reproduction que nous avons observée est très proche de celle décrite par Palévody (1974, cf. Figure 8) à la différence près que les collemboles peuvent effectuer plus de deux mues avant de se reproduire dans quelques cas (Figure 67).

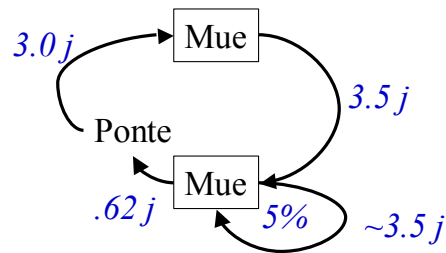


Figure 67 Cycle de mue et de ponte à 21°C en condition de nourriture non limitante. La durée moyenne en jour des intervalles entre événements est indiquée ainsi que la probabilité d'effectuer une nouvelle mue avant de pondre.

○ Deux niveaux de flexibilité de l'investissement dans la reproduction

L'investissement dans la reproduction des collemboles répond de manière brutale à une réduction elle-même brutale de la densité et à une augmentation concomitante et tout aussi brutale de la disponibilité des ressources alimentaires. Cette réponse se fait cependant avec un délai d'une semaine environ, délai qui correspond à la durée minimale moyenne observée entre deux événements de reproduction successifs. Il semble ainsi que les pontes produites au cours de la première semaine proviennent d'un cycle reproducteur initié dans des conditions environnementales difficiles. Elles sont en quelque sorte imprégnées de l'environnement dans lequel les femelles se trouvaient jusqu'alors : forte densité, peu de nourriture, reproduction réduite. Cependant, au cours de la première semaine, nous avons mis en évidence une augmentation de l'investissement dans la reproduction avec le temps. Ainsi, les collemboles semblent capables de modifier de deux manières la quantité d'énergie allouée dans la reproduction :

(1) À l'intérieur d'un cycle reproducteur, les collemboles allouent plus de ressources afin de produire plus d'œufs en réponse à une augmentation de la disponibilité en nourriture (Figure 60). Il resterait à savoir si cette flexibilité très rapide (de l'ordre de quelques jours) est permise grâce à la mobilisation de réserves énergétiques auxquelles le collembole ne touchait pas jusqu'alors ou si le surplus d'œufs produits utilise "en temps réel" les ressources très nouvellement acquises.

(2) Les femelles parviennent à augmenter de manière spectaculaire leur investissement dans la reproduction ($\times 2.5$) d'un cycle reproducteur à l'autre (7 jours) lorsque des ressources deviennent disponibles (Figure 60). Étant donné le volume des pontes produites, cette augmentation ne peut avoir lieu qu'en utilisant directement l'énergie nouvellement acquise par le collembole suite au changement des conditions environnementales.

Ces résultats démontrent une flexibilité de l'investissement reproducteur remarquable de part à la fois sa rapidité, son ampleur et sa complexité puisque qu'elle se manifeste à deux niveaux complémentaires. Chez cette espèce les ressources nouvellement acquises semblent jouer un rôle bien plus important dans la détermination de l'investissement dans la reproduction que les ressources en réserve (Boggs 1997). Ceci permet aux collemboles de tirer rapidement avantage de bonnes conditions environnementales, même éphémères. D'autre part, l'existence d'une flexibilité précoce bien que réduite semble indiquer à quel point chez cette espèce les pressions de sélection concernant le "minutage" de la reproduction semblent importantes. Lorsque les conditions environnementales s'améliorent, la population va entrer en croissance exponentielle et il est alors particulièrement avantageux de produire plus de jeunes le plus tôt possible.

○ Effort reproducteur

Mesurer l'effort reproducteur a toujours posé problème à l'écologiste de l'évolution (Stearns 1992). Bien que les paramètres que nous avons utilisés ne prennent pas en compte de potentielles différences de composition d'œufs ou encore différents coûts qui pourraient être associés avec l'acquisition des ressources, ils restent plus précis qu'une simple mesure de l'effort reproducteur se limitant à compter

le nombre d'œufs produits. De plus nous avons aussi intégré dans nos mesures la phénologie de la production d'œufs en utilisant les TIR, TIRR, TER, TERR.

Les femelles plus grosses investissent proportionnellement plus dans la reproduction en produisant à la fois des pontes plus nombreuses et des œufs plus gros comme c'est le cas par exemple chez le Saumon Royal (Healey 2001). Une forte interaction génétique*environnement a été mise en évidence : alors que l'effort reproducteur ne répondrait pas ou très peu à la sélection dans des conditions environnementales difficiles de fortes différences entre clones apparaissent au cours de la deuxième période. Au cours de la seconde période, la nourriture n'étant plus limitante, c'est la capacité du clone à acquérir la nourriture et à l'investir dans la reproduction qui va limiter la reproduction. Pour ces traits, il s'avère que comme pour les paramètres des trajectoires de croissance par exemple, l'héritabilité est plus prononcée lorsque les conditions sont bonnes ; il en est de même chez d'autres arthropodes telle que la daphnie (Ebert, Yampolsky et al. 1993). La flexibilité d'investissement dans la reproduction est donc héritable et susceptible d'une évolution adaptative.

○ **Densité ou ressources**

Notre expérience ayant manipulé de manière conjointe la densité et la disponibilité des ressources alimentaires sans toutefois croiser les deux facteurs, il ne nous est pas possible de connaître la part des réponses que nous avons observées qui est due à la densité en tant que telle ou bien à la restriction alimentaire. Une telle discrimination a pu être faite chez le cladocère *Ceriodaphnia* et il apparaît que les deux facteurs jouent un rôle (Rose, Warne et al. 2002).

○ **Absence de compromis physiologique?**

Nous avons pu mettre en évidence un changement de corrélation phénotypique entre les deux périodes. En environnement limitant, taille de ponte et taille des œufs sont négativement corrélés alors que lorsque les conditions sont meilleures les collemboles qui pondent plus d'œufs pondent aussi des œufs plus gros. La décomposition de la variance pour les deux traits étudiés a permis de montrer que ces corrélations phénotypiques globales reflètent seulement les corrélations génétiques sous-jacentes. En effet, aucune corrélation phénotypique intra-clone entre taille des œufs et les différentes mesures d'investissement dans la reproduction ne sont apparentes dans aucune des deux périodes.

Ce dernier résultat est assez surprenant puisqu'il tend à indiquer que dans un environnement donné et pour un génotype donnée, des individus produisant plus d'œufs ne sont pas contraints pour des raisons physiologiques à en produire de plus petits. Toutefois, l'absence de compromis physiologique pourrait être dû à un manque de puissance pour le détecter, à cause par exemple des erreurs de mesures. Il est aussi envisageable que les stratégies d'allocation des ressources sont assez peu variables au sein d'un génotype, réduisant ainsi la variabilité exprimée entre individus.

○ **Changement de pente des corrélations génétiques**

L'étude des patrons de variation entre taille et nombre d'œufs pondus révèle un effet majeur de la période sur les corrélations entre les deux traits : Au cours de la première période, les pontes les plus grandes comprennent les œufs les plus petits ce qui signe la présence d'un compromis entre ces deux traits. De nombreuses études ont pu mettre en évidence une telle corrélation négative entre nombre et taille des œufs (voir Baron, Ferrière et al. 1996 ; Fox & Czesak 2000) mais très peu contrôlent la variance génétique sous-jacente. Dans notre cas nous avons pu montrer que cette corrélation négative n'est pas due à une corrélation physiologique négative mais à une corrélation génétique négative entre les traits. La corrélation génétique négative au cours de la première période indique le fait que lorsque les ressources sont limitées, les clones qui parviennent à produire des œufs un petit peu plus nombreux sont ceux qui produisent des œufs en moyenne plus petits. Dans ces conditions environnementales difficiles, la quantité de ressources investie dans la reproduction est déterminée essentiellement par le milieu tandis que le rôle de pilotage du génotype se limite à modifier la manière dont ces ressources vont être partagées. Les différences entre clones reflètent dans cet environnement

des différences de **stratégie d'allocation** de la ressource se plaçant le long d'un compromis taille de ponte- taille des œufs.

Au cours de la seconde période, la corrélation phénotypique globale s'inverse et devient positive. À nouveau cette corrélation provient d'une corrélation génétique positive sous-jacente et pas d'une corrélation phénotypique intracloone. Ainsi au cours de la 2^{ème} période, alors que certains clones sont capables de produire à la fois de gros œufs et des pontes plus fournies, d'autres produisent à la fois moins et de plus petits œufs. Ces différences sont sans doute dues à des variations entre les clones dans leur **capacité d'acquisition** (van Noordwijk & de Jong 1986 ; Reznick, Nunney et al. 2000) : certains clones (DK, GM, PB TO, US, WI) semblent capables d'acquérir et d'utiliser de grandes quantités de ressources ce qui leur permet d'investir plus à la fois dans le nombre et la taille des jeunes produits alors que le flux d'énergie traversant les clones AP, BR, BV, GB et HA est sans doute moindre. De telles inversions de corrélation génétiques ont été à notre connaissance encore rarement observées (Leroi, Chen et al. 1994 ; Leroi, Chippindale et al. 1994).

○ Deux groupes de clones

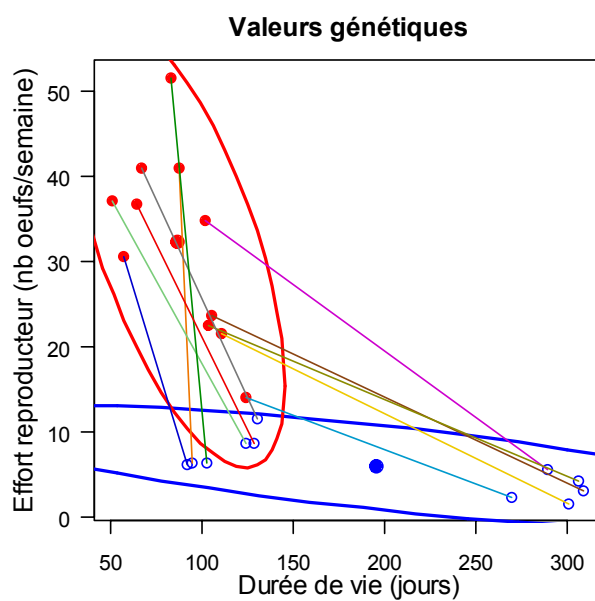
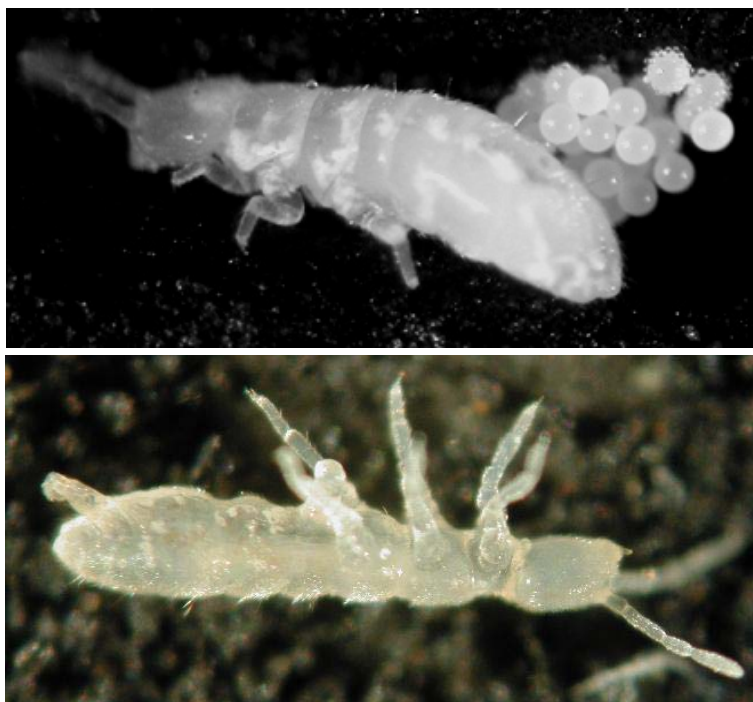
L'observation des clones sur les figures Figure 63 C et surtout D, permet de distinguer facilement deux groupes de clones, **DK, GM PB, TO, US, WI** d'une part et **AP, BR, BV, GB, HA** d'autre part.

L'observation de ces deux groupes suggère plusieurs causes :

- (1) Un **biais d'échantillonnage** dans la population des clones de *Folsomia* auquel cas l'existence de ces deux groupes est simplement due au hasard : d'autres clones qui auraient des valeurs intermédiaires ont été sous échantillonnés.
- (2) Une **convergence évolutive** : les deux groupes observés se trouvent dans deux bassins d'attractions distincts dans le paysage adaptatif constitué par le plan taille - nombre d'œufs.
- (3) Des **contraintes évolutives** profondes qui ont conduit des clades de clones dans des chemins évolutifs distincts et contraints. Une fois engagé, une lignée évolutive ne peut plus parcourir tout l'espace des traits et se trouve confiné à une certaine zone de ce paysage adaptatif par diverses contraintes génétiques.

Or ces deux groupes se rassemblent sur deux branches distinctes de l'arbre phylogénétique que nous avons construit précédemment (Figure 23). Il y a une correspondance parfaite entre la topologie de l'arbre et les traits observés au cours de la seconde période. On peut remarquer en particulier la proximité des clones BV et HA, eux-mêmes très proches sur l'arbre. Ce **lien très fort entre phylogénie et traits d'histoire de vie** suggère que l'évolution des stratégies démographiques est un processus lent et progressif et qu'il existe de nombreuses contraintes au niveau du génome ralentissant ou canalisant cette évolution. La troisième hypothèse semble donc favorisée.

Chapitre 5 REPRODUCTION, SURVIE, VIEILLISSEMENT



A Introduction

Le suivi longitudinal des valeurs des traits d'histoire de vie permet de mettre en évidence des changements avec l'âge de ces traits. L'altération progressive de nombreuses fonctions avec l'âge caractérise le processus de sénescence. Celui-ci peut toucher plusieurs types de traits. Il est défini par un changement progressif avec l'âge de la valeur d'un trait qui va induire une réduction de la valeur sélective résiduelle de l'organisme. Si l'on considère la survie, la sénescence représente une augmentation du taux de mortalité avec l'âge. Pour la fécondité il s'agirait alors d'une réduction de celle-ci pour les organismes vieillissant. Le processus de sénescence touche la quasi-totalité des organismes vivants. Son ubiquité et sa variabilité intra et interspécifique ont conduit les biologistes de l'évolution à s'interroger sur la manière dont la sélection naturelle peut conduire à l'évolution d'une détérioration avec l'âge des performances liées à la valeur sélective.

L'idée selon laquelle le vieillissement serait un trait adaptatif, programmé génétiquement qui servirait à limiter la taille des populations et éviter la surpopulation est complètement rejetée (Kirkwood 2002). Tout d'abord, on comprend mal dans quelles conditions écologiques, un gène qui coderait pour un vieillissement accéléré pourrait être favorisé par la sélection naturelle. D'autre part dans les écosystèmes naturels, l'essentiel de la mortalité est due à des facteurs extrinsèques tels que la prédation, la pénurie de ressources, les accidents, si bien qu'un tel gène ne pourrait pas être sélectionné directement. Enfin, cette forte mortalité extrinsèque, les organismes sauvages ne sont que très rarement touchés par les effets du vieillissement : ils meurent généralement avant que ceux-ci ne se manifestent (Berry & Bronson 1992). À cause de cette mortalité extrinsèque, la prise de la sélection naturelle sur les processus dépendants de l'âge est d'autant plus faible que l'âge est avancé.

A I Théories sur l'évolution du vieillissement

L'ensemble des théories évolutives de la sénescence se basent sur le fait que la sélection favorise les allèles qui permettent d'accroître la valeur sélective précoce. Plus les effets sur la valeur sélective des individus sont tardifs, plus la pression de sélection sur ces allèles est faible. Sur ces considérations, deux théories évolutives majeures ont été proposées dans les années 50. La première, le modèle d'accumulation des mutations, fut proposée par Sir Peter Medawar (Medawar 1952) et la seconde, la théorie de la pléiotropie antagoniste, par George Williams (Williams 1957). Une troisième théorie, la théorie du soma jetable, proche de celle de la pléiotropie antagoniste, fut proposée vingt ans plus tard (Kirkwood 1977).

○ Accumulation de mutation

Alors que la sélection peut éliminer facilement les mutations délétères agissant tôt dans la vie, son efficacité à éliminer les mutations ayant des effets plus tardifs est réduite. Ainsi, des mutations délétères ayant des effets tardifs peuvent s'accumuler au cours des générations et conduire à une augmentation de la mortalité avec l'âge. Dans le cadre de cette théorie, on peut s'attendre à observer une forte hétérogénéité dans la distribution de ce type d'allèles entre individus.

○ La pléiotropie antagoniste

Williams quant à lui proposa que des effets génétiques délétères tardifs pourraient être favorisés par la sélection naturelle si les gènes ayant de tels effets avaient des effets bénéfiques précoces. Étant donné que la valeur sélective associée à la présence d'un allèle tient compte à la fois de l'effet de cet allèle et de la probabilité qu'icelui s'exprime - c'est à dire de l'âge auquel l'effet est manifeste -, de faibles effets bénéfiques s'exprimant de manière précoces peuvent être sélectionnés même s'il sont associés à des effets délétères bien plus forts mais tardifs. Cette théorie est donc basée sur la présence de compromis génétiques âge-dépendant entre traits.

○ La théorie du soma jetable

En 1977, Kirkwood propose une troisième théorie appelée la théorie du soma jetable (Kirkwood 1977). Cette théorie se base sur le fait que l'entretien des cellules est coûteux (synthèse protéique, réparation de l'ADN, systèmes antioxydants...). Étant donné à nouveau que les causes de mortalité externes sont prépondérantes dans la nature, il est inutile pour l'organisme de dépenser une trop grande partie des ressources métaboliques rares pour l'entretien d'un soma qui est condamné à disparaître. Du point de vue évolutif, il peut être plus avantageux de détourner une partie de l'énergie qui aurait pu être utilisée pour l'entretien du soma pour l'investir dans les fonctions de reproduction. Cette théorie permet d'expliquer pourquoi des organismes ont des durées de vie différentes. Plus les facteurs de mortalité extrinsèques sont importants, plus la quantité optimale d'énergie qu'un individu devrait investir dans l'entretien de son soma est réduite et donc de ce fait plus sa longévité intrinsèque est courte.

A II **Test des théories évolutives**

Suite à la formulation des ces différentes théories, un ensemble de travaux s'est attaché à les tester au moyen d'études comparatives, de mesures démographiques ou d'expériences de sélection.

○ Risque de mortalité extrinsèque

Dans le cadre des théories évolutives sur le vieillissement, le niveau de risque de mortalité extrinsèque apparaît comme un facteur déterminant dans l'évolution de la longévité. Plus ces risques sont élevés, plus la sélection sur les âges avancés est faible et plus la sénescence est précoce et forte (Rose 1991). Une telle prédiction peut être étudiée en comparant les patrons de vieillissement de différentes espèces ou populations dont le niveau de mortalité extrinsèque diffère.

Des adaptations permettant de réduire la mortalité extrinsèque sont souvent associées à des longévités accrues. Le vol permet par exemple aux chauves-souris et aux oiseaux de réduire fortement l'efficacité de la prédation à laquelle ils pourraient être soumis. On peut donc prédire que ces organismes subissent une sénescence réduite par rapport à des organismes partageant les mêmes niches écologiques mais ne volant pas. Cette prédiction est en accord avec les observations de grande longévité potentielle pour ces groupes d'organismes. On pourrait encore citer la très grande longévité des tortues protégées par leur carapace ou bien celle de l'être humain dont le cerveau lui permet de réduire fortement les risques externes de mortalité (Kirkwood & Austad 2000). Au sein d'une espèce le même type de prédiction peut être faite. Des daphnies provenant de mares dont le risque de mortalité extrinsèque est élevée ont une sénescence accélérée par rapport aux individus issus d'étangs où la mortalité extrinsèque est réduite (Dudycha 2001). Une forte mortalité extrinsèque peut être invoquée dans la mise en place de stratégies de reproduction semelpares (Schneider & Lubin 1997). Ainsi l'idée globale selon laquelle la sénescence résulte d'une réduction des pressions de sélections avec l'âge semble acceptable.

○ Accumulation de mutations

Les expériences menées pour tester la théorie de l'accumulation de mutation n'ont pas apporté jusqu'à maintenant de preuve probantes (Curtsinger, Fukui et al. 1995 ; Promislow, Tatar et al. 1996 ; Promislow & Pletcher 2002).

○ Pléiotropie antagoniste et soma jetable

En revanche de nombreuses expériences et données supportent l'idée que la sénescence résulte de compromis entre traits. La théorie de la pléiotropie antagoniste, défendue par Rose (Rose 1991), a dominé la pensée évolutive et a été en partie validée par des expériences de sélection menées essentiellement sur la drosophile, montrant l'existence d'un compromis entre fécondité précoce et survie tardive (Luckinbill, Arking et al. 1984 ; Rose 1984 ; Partridge, Prowse et al. 1999). Si la sélection joue sur le niveau de mortalité extrinsèque, les populations dont le taux de mortalité est réduit

évoluent vers une longévité plus grande associée à une fécondité précoce réduite (Stearns, Ackermann et al. 2000). La pléiotropie antagoniste a été avancée comme étant une des causes possible de la persistance de variabilité génétique dans les populations naturelles, sur la base que l'existence de compromis tend à augmenter le polymorphisme. Cependant l'importance de la pléiotropie antagoniste en conditions naturelles reste encore très débattue (Curtsinger, Service et al. 1994 ; Curtsinger, Fukui et al. 1995 ; Promislow & Pletcher 2002).

L'exemple classique d'un tel compromis, que l'on associe aux coûts physiologiques de la reproduction, est démontré par le fait qu'il existe chez les drosophiles une corrélation génétique négative entre fécondité précoce et survie (Rose & Charlesworth 1981 ; Rose & Charlesworth 1981). Une démonstration probante existe pour la relation de causalité entre fécondité précoce et mortalité tardive (Sgro & Partridge 1999). En bloquant de manière artificielle la reproduction précoce, la survie des drosophiles est augmentée et devient similaire à celle de souches sélectionnées pour leur longévité. Une reproduction précoce peut entraîner des dommages directs ou indirects en entrant en compétition pour les ressources avec des fonctions de maintien du soma. Dans les deux cas, cela conduit à une accumulation de dommages puis à une diminution des performances tardives. Le même type d'observation a été effectuée chez le nématode: la destruction de cellules précurseurs de la lignée germinale entraîne une augmentation de la survie de 60% (Hsin & Kenyon 1999). Cet effet ne semble pas lié à la suppression de la reproduction puisqu'une ablation du système reproducteur n'augmente pas la survie (Kenyon, Chang et al. 1993). La lignée germinale pourrait réguler directement le processus de sénescence en produisant un signal de vieillissement plus ou moins tardif (Guarente & Kenyon 2000). D'autre part, la résistance à l'absence de nourriture est un trait génétiquement positivement corrélé à la survie ; la sélection pour une reproduction tardive augmente la longévité et la résistance à l'absence de nourriture et à la dessiccation (Service & Rose 1985). La sélection pour une plus grande résistance à l'absence de nourriture et à la dessiccation sélectionne aussi inversement pour une plus grande longévité (Rose, Vu et al. 1992).

La théorie du soma jetable semble bien corroborée par des modèles (Abrams & Ludwig 1995), par des études comparatives entre espèces (Kirkwood 1992 ; Keller & Genoud 1997) ou par des expériences de sélection (Zwaan, Bijlsma et al. 1995). À l'échelle moléculaire et cellulaire, la théorie du soma jetable prédit que la longévité devrait être proportionnelle à l'énergie et à la quantité de ressources allouées à la maintenance et la réparation. Cette prédiction est corroborée par des observations mettant en relation la longévité et les taux de production de composés oxydants (Ku, Brunk et al. 1993) ou la capacité de réparation de l'ADN (Kirkwood 1989). Dans cette perspective, il existe un lien fort entre capacité de résistance au stress et longévité potentielle des espèces (Finkel & Holbrook 2000 ; Kirkwood & Austad 2000). Tous les mutants du nématode et de la drosophile qui ont une durée de vie plus longue ainsi que les lignées sélectionnées pour leur durée de vie allongée présentent des propriétés de résistance au stress augmentées (Guarente & Kenyon 2000). Inversement, les mutations augmentant la sensibilité au stress oxydant, réduisent la durée de vie.

A III Vieillessement et effort reproducteur

La théorie de la pléiotropie antagoniste et celle du soma jetable indiquent qu'il n'est pas possible d'étudier indépendamment la survie et la reproduction, les deux traits évoluant de manière conjointe.

Est-ce que des taux élevés d'investissement précoce dans la reproduction sont associés à des taux de sénescences plus élevés ? La mise en évidence d'une telle relation peut se faire de plusieurs manières : expériences de sélection ; comparaisons d'espèces ; comparaisons de populations au sein d'une espèce. L'observation d'une corrélation génétique négative entre reproduction et survie peut s'expliquer par le fait que la sélection pour une reproduction précoce intense soit (1) contraint directement la longévité des adultes, ou bien (2) est associé à une réduction de la sélection sur les classes d'âges plus âgées laissant à des mutations délétères à effets tardifs la possibilité de s'accumuler (Tatar, Gray et al. 1997).

Si le taux de mortalité augmente avec l'âge, la valeur reproductive future d'un individu devrait diminuer et si l'effort reproducteur est considéré comme ajusté pour optimiser la reproduction présente et future, l'effort reproducteur d'un individu devrait augmenter avec l'âge.

Un des problèmes concernant l'étude de la sénescence est qu'il est très difficile d'obtenir des données de qualité et quantité suffisantes dans les populations naturelles. Les compilations de données de populations naturelles (Promislow 1991 ; Ricklefs 1998 ; Ricklefs & Scheuerlein 2001) sont très minoritaires face aux études portant sur des individus élevés en laboratoire en conditions contrôlées. Ces individus maintenus en laboratoire pendant de nombreuses générations peuvent présenter des phénomènes de domestication (Sgro & Partridge 1999 ; Harshman & Hoffmann 2000) ; lorsque ces individus sont récemment issus de populations naturelles (Reznick 1997), certains génotypes peuvent s'avérer préadaptés par hasard aux nouvelles conditions environnementales offertes au laboratoire. Or, étant donné la sensibilité des traits d'histoire de vie à des interactions génétique $\times$ environnement, il est essentiel de s'affranchir du risque de tels biais. On doit pour cela multiplier les conditions environnementales de l'étude en faisant varier par exemple la température ou la quantité de nourriture (Tatar 2001).

L'analyse des compromis entre reproduction et survie peut se faire grâce à une manipulation de la reproduction en comparant par exemple les profils de survie d'individus stérilisés à ceux d'individus témoins par exemple (Sgro & Partridge 1999). Une seconde approche est d'imposer une restriction alimentaire. Chez de nombreux organismes, une restriction de l'intrant calorique entraîne à la fois une baisse ou un arrêt complet de la reproduction et une augmentation de la durée de vie. Cependant la manipulation de l'investissement dans la reproduction ne produit pas forcément de corrélation négative entre reproduction et longévité. En effet, si les individus ou populations étudiés diffèrent par leur capacité d'acquisition des ressources, des corrélations positives entre traits peuvent apparaître là où des compromis sont attendus (van Noordwijk & de Jong 1986). L'observation d'une corrélation génétique négative va dépendre du niveau de ressources disponible et du niveau de variation génétique sur l'allocation des ressources entre différentes fonctions par rapport à la variation génétique sur l'acquisition de ressources (modèle en Y, de Jong & van Noordwijk 1992).

D'autres phénomènes peuvent expliquer l'existence d'un compromis entre reproduction et longévité sans invoquer la compétition pour des ressources communes. Une reproduction élevée nécessite un fort niveau d'activité métabolique qui peut engendrer des stress métaboliques élevés par la production par exemple de radicaux libres générés par une activité respiratoire importante. Ces stress peuvent être à l'origine d'un vieillissement accéléré et donc d'une durée de vie réduite. Une limitation de ces effets par la surexpression de superoxyde dismutase ou de protéines chaperonnes peut améliorer la survie, mais chez la drosophile cette surexpression, dans les cas de protéine chaperonne, réduit la viabilité des œufs (Silbermann & Tatar 2000).

A IV Les facteurs influençant le vieillissement

A IV 1) Facteurs génétiques

Les expériences de sélection ont permis d'étudier les facteurs génétiques pouvant intervenir dans le processus de vieillissement. La recherche de gènes impliqués dans les processus de vieillissement a été principalement menée sur les quelques organismes modèles que sont le levure, le nématode, la drosophile et la souris. De nombreuses études ont mis en évidence une composante génétique à la longévité et ceci aussi bien chez les invertébrés que chez les vertébrés. Les études menées sur les humains sont particulièrement délicates mais indiquent l'existence d'une composante génétique à la longévité (Vaupel, Carey et al. 1998). Les coefficients d'héritabilité estimés sont souvent assez réduits : ils valent 20 à 30% chez les rongeurs (Curtsinger, Fukui et al. 1995), ne dépassent que très rarement 30% chez l'homme (Cournil & B.L. Kirkwood 2001), et 10% chez les drosophiles (Curtsinger, Fukui et al. 1995). Chez certains coléoptères l'héritabilité de la longévité varie entre 10 et 30% (Tatar & Carey 1994).

A IV 2) Les facteurs environnementaux

○ Mortalité extrinsèque

Nous avons détaillé ci-dessus la manière dont les risques extrinsèques de mortalité influent sur la longévité intrinsèque des organismes. Cette influence n'est pas directe mais se fait via le processus évolutif qu'elle a entraîné.

○ Restriction calorique

Dans l'état actuel des connaissances, le seul facteur environnemental qui a une action quasi systématique sur la durée de vie est la quantité de ressources. De nombreux travaux ont comparé la survie d'organismes soumis à différents régimes caloriques. En général des animaux nourris *ad libitum* sont comparés à des animaux en restriction calorique (30 à 60% du régime *ad libitum*). La restriction calorique est la seule manipulation expérimentale qui induit un ralentissement sensible du taux de vieillissement, chez un grand nombre de taxons tels que la levure (Campisi 2000), le nématode, la drosophile, la souris (Hart & Turturro 1998 ; Shanley & Kirkwood 2000 ; Mair, Goymer et al. 2003), et même certains collemboles (Walsh & Bolger 1990). Ceci a pour conséquence d'augmenter à la fois la durée de vie moyenne et la durée de vie maximale. Cet effet est direct et réversible (Mair, Goymer et al. 2003). Chez les rongeurs, la durée de vie moyenne et maximale des organismes en restriction calorique est d'autant plus grande que la restriction est importante. La relation globale est linéaire et pour une restriction alimentaire de 30%, la survie augmente de 50% environ chez les rongeurs (Merry 2002). L'augmentation peut atteindre 80% pour d'autres groupes d'espèces telles que la levure (Paoloni-Giacobino & Pichard 2003).

Les mécanismes exacts par lesquels la restriction calorique conduit à une augmentation de la durée de vie sont encore très mal connus. Cet effet est considéré comme une des indications les plus fortes que le processus de vieillissement peut être régulé (Guarente & Kenyon 2000). La restriction calorique déclenche une cascade d'effets physiologiques parmi lesquels il est difficile de déterminer ceux qui portent sur la longévité.

Les restrictions caloriques entraînent quatre catégories de changements (Hart & Turturro 1998) :

- La durée de vie moyenne et maximale des organismes augmente.
- Les activités consommatrices d'énergies non reliées à la recherche de nourriture sont considérablement réduites. Chez les organismes poïkilothermes, la restriction calorique entraîne une réduction de la température corporelle (Duffy, Feuers et al. 1990). La prolifération cellulaire est réduite (Lu, Hinson et al. 1993). Les fonctions reproductrices sont ralenties ou arrêtées (Nelson, Gosden et al. 1985).
- La capacité et l'efficacité d'acquisition des ressources augmente par le biais d'une activité autour de la nourriture accrue lorsque celle-ci est présente (Duffy, Feuers et al. 1989) et par une augmentation de l'efficacité de certaines enzymes pour l'extraction de l'énergie de la nourriture ingérée (Hart & Turturro 1998).
- Les processus permettant de maintenir l'intégrité du génome deviennent plus efficaces. Ceci passe par exemple par la réduction des stress oxydants, les animaux soumis à une restriction calorique ayant un potentiel antioxydant plus élevé (Djuric, Lu et al. 1992 ; Sohal & Weindruch 1996 ; Finkel & Holbrook 2000 ; Djuric, Lewis et al. 2001 ; Lopez, Gredilla et al. 2002).

Ces observations peuvent-elles être conciliées avec les différentes théories sur l'évolution du vieillissement ? S'il est difficilement concevable qu'une restriction alimentaire puisse avoir un quelconque effet sur des mutations délétères accumulées dont l'effet est tardif, il est possible en revanche de relier restriction calorique et pléiotropie antagoniste. En restriction calorique l'expression de certains gènes à effets bénéfiques précoces et délétères tardifs pourrait être réduite ou arrêtée. En régime restrictif, la reproduction est généralement très réduite ou nulle et les programmes génétiques

associés pourraient être mis en silence. Il a d'ailleurs été montré directement que la restriction calorique peut modifier l'expression de certains gènes (Lee, Klopp et al. 1999).

Dans le cadre de la théorie du soma jetable, il est plus difficile d'expliquer le phénomène de restriction calorique : si la sénescence est due à un défaut d'allocation de ressources dans les fonctions de maintien du soma, comment concilier une réduction de la quantité d'énergie acquise avec une décélération du vieillissement?

Shanley et Kirkwood (2000) ont proposé un modèle conciliant théorie du soma jetable et restriction calorique, modèle critiqué par Mitteldorf (2001 ; Mitteldorf 2001) qui considère le paradoxe de la restriction alimentaire comme non encore résolu. On peut néanmoins proposer que la sélection ait favorisé les individus qui lors de périodes de carence alimentaire modifient de manière drastique l'allocation d'énergie entre reproduction et maintenance en allouant la majorité des ressources vers la maintenance. Ceci permettrait à ces individus d'augmenter leur probabilité de survie lors de cette période de stress au cours de laquelle investir dans la reproduction serait sans doute peu rentable étant donné qu'il y a de fortes chances que la restriction calorique affecte aussi les jeunes produits et réduise fortement leur survie et leur probabilité d'être recrutés. L'interprétation de ce type de réponse du point de vue évolutif est que les périodes de restriction alimentaires sont sans doute fréquentes et dans de nombreuses niches écologiques. Au cours de ces périodes peu propices pour la reproduction, la survie devient un facteur prépondérant. Des individus qui parviennent à augmenter leur survie au cours de ces périodes, quitte à sacrifier fortement leur fécondité, seront avantagés par rapport à des individus qui même s'ils investissent plus dans la reproduction n'en tireront que très peu de bénéfice compte tenu de la forte mortalité de leurs jeunes dans de telles conditions.

A V *Changement des taux de mortalité avec l'âge*

Depuis longtemps, on a constaté de manière empirique une augmentation du taux de mortalité avec l'âge. L'équation de Gompertz est alors utilisée comme modèle paramétrique du processus de vieillissement (Partridge & Mangel 1999 ; Kowald 2002). Cependant il a été observé chez plusieurs espèces un ralentissement de l'augmentation du taux de mortalité avec l'âge, le taux de mortalité pouvant atteindre un plateau (Carey, Liedo et al. 1992 ; Curtsinger, Fukui et al. 1992 ; Tatar, Carey et al. 1993 ; Brooks, Lithgow et al. 1994) ou même diminuer (Vaupel, Carey et al. 1998). Souvent ce ralentissement du vieillissement est observé dans la période de vie post-reproductive ; il est donc considéré comme sélectivement neutre, d'où son interprétation comme une réponse corrélée à la sélection d'autres traits (Partridge & Mangel 1999). Une seconde interprétation est qu'à partir d'un certain âge les pressions de sélection arrêtent de diminuer - elles sont virtuellement nulles. En conséquence, le taux de mortalité arrêterait d'augmenter et se stabiliserait (Mueller & Rose 1996). Enfin on peut comprendre ce phénomène comme résultant d'un changement progressif de la composition des cohortes suivies avec l'âge : les cohortes s'enrichissent petit à petit en individus particulièrement résistants et le taux de mortalité mesuré sur ces individus tend à décroître. Cela suppose que les individus de la cohorte initiale ont des fragilités plus ou moins grandes. Ces fragilités proviennent elles-mêmes de différences génétiques entre les individus ou bien d'une hétérogénéité intra-génotype dont l'origine est liée au bruit développemental (Spudich & Koshland 1976 ; Elowitz, Levine et al. 2002) ou à l'histoire environnementale de chaque individu.

Ces observations soulèvent plusieurs questions fondamentales :

- Quels sont les âges auxquels les gènes délétères supposés être à l'origine de la sénescence s'activent?
- Pourquoi au sein de lignées clonales isogéniques maintenues dans des conditions contrôlées homogènes observe-t-on une grande diversité de durée de vie?

A VI *Changement de la reproduction avec l'âge*

Curieusement, la plupart des études écologiques sur le vieillissement ne considèrent la reproduction que dans le cadre d'un compromis entre reproduction précoce et survie tardive. Les descriptions et les

études chez les espèces sauvages de la manière dont l'effort reproducteur en soi change avec l'âge et est ou non soumis à une forme de vieillissement sont plus rares. Le nombre de jeunes élevés chaque année par les hirondelles est réduit lorsque celles-ci deviennent plus âgées (Moller & De Lope 1999).

Bien souvent, les différences de mortalité tardive observée entre individus concernent la survie post-reproductive des organismes. Quel sens évolutif peut-on donner à l'existence d'une survie post-reproductive et à l'existence d'une variabilité génétique ou non génétique à cette survie ?

A VII Problématiques abordées

Une des limites de l'expérience présentée dans le Chapitre 4 est que nous ne connaissons pas précisément l'âge des femelles étudiées. Grâce à un suivi longitudinal individuel de 220 collemboles depuis leur naissance jusqu'à leur mort, il nous a été possible d'analyser plusieurs caractéristiques impliquées dans la totalité de l'effort reproducteur au cours de la vie des individus.

En utilisant les 11 lignées clonales décrites précédemment, élevées dans deux conditions environnementale (nourrissage faible ou *ad libitum*), il nous est possible d'étudier les facteurs génétiques, les facteurs environnementaux, et leurs interactions, sur les patrons de vieillissement de la survie et de la reproduction. Nous avons spécifiquement abordé les problèmes suivants :

○ Manifestations du vieillissement

Peut-on observer des signes de vieillissement chez *Folsomia candida* ?

Ce vieillissement affecte-t-il

- Le comportement et le phénotype de l'organisme,
- Sa reproduction : taille de ponte, rythmicité des pontes, qualité des œufs (taille, fertilité),
- La longévité ?

○ Effets de la restriction calorique

Quels sont les effets de la restriction calorique sur les patrons de reproduction et de survie ?

De quelle manière les processus de vieillissement sont-ils affectés par la quantité de ressources disponibles ?

○ Facteurs génétiques

Les différents paramètres de la reproduction varient-ils entre clones ?

Existe-il une variance génétique sur la plasticité de ces paramètres ?

Peut-on détecter une variabilité génétique sur les caractéristiques des processus de vieillissement et sur leur plasticité ?

En d'autres termes, existe-il une variabilité génétique dans les réponses à la restriction calorique ?

Nous essayerons ensuite d'interpréter les effets observés dans le cadre des théories évolutives du vieillissement décrites précédemment (Chapitre 5A I).

○ Variabilité génétique à la susceptibilité aux facteurs extrinsèques de mortalité

Comme nous l'avons expliqué, différents niveaux de sénescence peuvent résulter de niveaux de mortalité extrinsèque différents (Dudycha 2001). Chez les collemboles, une des causes principales de mortalité est sans doute la prédation à laquelle ils sont soumis par une grande quantité d'arthropodes prédateurs (Johnson & Wellington 1980 ; Johnson & Wellington 1980 ; Van Straalen 1985 ; Lister, Block et al. 1988 ; Hopkin 1997).

Afin d'étudier si les différences de niveaux de sénescence observées entre les différents clones de *Folsomia* peuvent être dues à des différences génétiques entre clones quant à leur susceptibilité à la prédation, nous avons effectué une expérience visant à mesurer l'efficacité d'un de leurs prédateurs

naturels, un acarien prédateur du sol, *Pergamasus crassipes* (Linné) (Figure 68), sur trois clones de *Folsomia*.

○ Effort reproducteur et longévité

Nous verrons enfin si les différences de longévité observées peuvent être mises en relation avec les différents niveaux de reproduction. Nous rechercherons l'existence de compromis physiologiques et génétiques entre survie et succès reproductif total, effort reproducteur moyen, effort reproducteur précoce ou bien précocité de la maturation

B Matériel et méthode

B I Protocole expérimental

Les données analysées dans cette partie proviennent des mêmes individus que ceux dont la maturation et la croissance ont été étudiées au cours du Chapitre 3 ci-dessus. Le protocole expérimental est détaillé dans le Chapitre 3B I, page 55. Rappelons seulement que pour chacun des 11 clones, 20 femelles ont été isolées depuis leur naissance et suivies tout au long de leur vie, jusqu'à leur mort naturelle. La moitié d'entre elles a été placée dans un environnement avec de la nourriture présente en permanence alors que l'autre moitié a été maintenue dans des boîtes d'élevage dans lesquelles de la nourriture n'était présente qu'un jour par semaine (régime de restriction calorique). Dans notre expérience, si l'on considère que la quantité de nourriture ingérée par un collembole est proportionnelle au temps de présence de cette nourriture dans le milieu, le régime de restriction calorique que nous avons appliqué est de 15%. Cependant, en régime *ad libitum*, les collemboles ne mangent pas en permanence et en pratique le régime imposé est sans doute moins restrictif.

Au cours de leur vie, la date de chaque événement de reproduction a été notée et le nombre d'œufs pondus à chacun de ces événements a été compté. Au total, les 220 femelles ont produit 53085 œufs au cours de 1347 pontes. Parmi ces œufs, 9757 provenant de 583 pontes ont été mesurés (cf. Chapitre 2D II 1 b), page 40). En raison de l'espacement des mesures au cours de l'expérience, les mesures de taille d'œufs ont été arrêtées après 234 jours et nous ne possédons pas de mesures sur les pontes suivantes. Nous avons mesuré la taille des œufs jusqu'à la 12^{ème} ponte pondue par un collembole au cours de sa vie. Nous avons pu mesurer la proportion d'œufs stériles pour 937 pontes (cf. Chapitre 2D II 1 c), page 41).

D'autre part la longueur des femelles a été mesurée tout au long de leur vie à peu près une fois par semaine, ce qui représente au total 4178 mesures de taille (cf. Chapitre 2D I 1 b), page 38).

La répétabilité des mesures de taille d'œufs et de taille corporelle a été estimée à 79% et 96% respectivement (cf. Chapitre 2D I 1 c), page 38 et Chapitre 2D II 1 b), page 40).

B II Mesure de la réponse fonctionnelle sur trois clones

Afin de d'étudier l'existence d'une variabilité génétique au risque de prédation encouru par les collemboles, nous avons effectué une mesure de la réponse fonctionnelle d'un prédateur acarien, *Pergamasus crassipes*, sur trois clones, les clones DK, GB, et TO. Les expériences ont eu lieu à la station biologique de Foljuif, en Seine-et-Marne (France). Des adultes de l'acarien prédateur *Pergamasus crassipes* ont été récoltés dans la litière des bois caducifoliés environnants puis conservés isolément et mis à jeûner en boîtes d'élevage pendant une nuit afin de standardiser leur niveau de faim. Chaque acarien a été utilisé une seule fois puis relâché, repu, dans sa population d'origine ☺.

L'expérience de prédation a consisté à introduire dans des boîtes circulaires de quatre surfaces différentes (70, 140, 280, 560 cm²), un, deux ou quatre collemboles d'un même clone. Cela permet d'obtenir six niveaux de densité de proie. Un acarien est ensuite introduit dans la boîte et son comportement suivi et noté pendant une heure (attaques, captures de collemboles, manipulation de

proie). Au cours de chaque suivi, la densité est maintenue constante en introduisant un nouveau collembole après chaque capture.

Pour chaque taille type de boîte et nombre de collembolés introduits, l'expérience a été répliquée 24 fois (8 par clone) ce qui correspond au total à 288 essais.

La réponse fonctionnelle, c'est à dire le nombre de proies capturées par prédateur en fonction de la densité de proies (Holling 1959), est ensuite étudiée au moyen d'une régression logistique (Juliano 2001).

Encadré 3 Les acariens prédateurs de la microfaune du sol.

Les acariens sont présents dans la quasi-totalité des écosystèmes continentaux, de la mer jusqu'aux plus hautes altitudes. C'est un groupe très diversifié (~40 000 espèces ont été décrites) ayant adopté de nombreux modes de vies. L'ordre des Acariens se divise en deux sous-ordres, les Acariformes et les Parasitiformes. C'est au sein des Parasitiformes que se trouve le large groupe des Mésostigmates ou Gamasides, un groupe constitué essentiellement de prédateurs. Les Mésostigmates regroupent les Uropidina et les Gamasina. La plupart des Gamasina sont des prédateurs mobiles dépourvus d'yeux détectant leurs proies par des stimuli tactiles et olfactifs. La première paire de pattes a un rôle tactile pour détecter les proies et préhensile lors d'une attaque. Lors d'une capture, la cuticule de la proie est percée par les chélicères et le prédateur injecte des liquides digestifs dans la proie qui une fois dissoute est aspirée. Les Gamasines exercent leur prédation sur de nombreux organismes de la microfaune du sol et particulièrement sur les collembolés (Koehler 1997 ; Koehler 1999). Les densités de Mesostigmata peuvent être très élevées dans les litières (15600 individus / m² appartenant à 32 espèces (Huhta 1996)).



Figure 68 *Pergamasus crassipes* (à gauche, reproduction avec l'aimable permission de Masha Minor ©) et un Labidostomatidae en train de manger un isotomidæ (à droite, photo ©Roy Norton.).

B III Analyses statistiques

Les méthodes statistiques utilisées sont présentées dans le Chapitre 1C, page 18.

B III 1) Patrons de reproduction

○ Démarche générale

Nous avons commencé par étudier l'effet global du régime de nourrissage et des effets génétiques sur les différentes mesures de la reproduction afin de quantifier la plasticité des traits, l'héritabilité de cette plasticité, l'héritabilité dans chaque environnement et l'éventuelle hétéroscédasticité entre environnements ou entre clones. Ces analyses ont été effectuées au moyen de modèles mixtes (*lme*). Lorsque plusieurs mesures sont effectuées par individu (analyses des tailles de ponte par exemple), un effet aléatoire correspondant au code des individus est inclus dans la partie aléatoire du modèle.

Nous avons ensuite étudié l'effet de l'âge sur les caractéristiques de la reproduction soit en incluant l'âge comme covariable, soit en étudiant la manière dont le paramètre change en fonction du rang de ponte. Étant donné le nombre assez élevé de pontes, le rang de ponte a été considéré (comme d'ailleurs la taille de ponte) comme une variable quantitative continue dans les modèles. Afin de

modéliser la sénescence, nous avons utilisé des fonctions polynomiales de degré trois de la mesure du temps (âge ou rang de ponte) pour permettre une croissance suivie d'une décroissance avec le temps de la variable dépendante. Afin de détecter d'éventuels effets génétiques sur les paramètres de la dynamique temporelle, les différents paramètres de la fonction polynomiales ont été inclus en plus dans la partie aléatoire du modèle comme un effet aléatoire dépendant de l'effet clone (Pinheiro & Bates 2000). Si ces effets sont significatifs, cela permet d'extraire une variance génétique associée à chacun des paramètres de la fonction polynomiale et de reconstruire les courbes prédites pour chacun des clones. Cependant, les mesures d'héritabilité de chacun de ces paramètres n'ont pas été systématiquement calculées.

Afin d'étudier la manière dont se structure la variance génétique d'un trait en fonction du temps nous avons calculé l'héritabilité des traits associés à chaque ponte en fonction du rang de ponte. Étant donné que chacune de ces mesures est effectuée sur un nombre réduit d'observations, la puissance du test associé est elle aussi réduite²⁹.

○ Traits étudiés

Nous avons étudié des traits mesurés au niveau de chaque ponte et au niveau de la vie totale d'un collembole. Dans ce dernier cas, n'ont été analysées que les données issues de collemboles morts de mort naturelle.

Au niveau de la vie du collembole, il s'agit :

- Du nombre de pontes pondues par chaque individu,
- Du succès reproductif total ou nombre total d'œufs pondus par un collembole au cours de sa vie ("lifetime reproductive success").

Au niveau de chaque ponte nous avons analysé :

- La taille de ponte ou fécondité (nombre d'œufs par ponte),
- L'intervalle entre pontes : durée séparant la ponte de l'évènement reproducteur précédant ou de la naissance dans le cas de la première ponte,
- La taille des œufs (section mesurée en mm²),
- La fertilité ou proportion d'œufs stériles,
- Le **taux d'investissement reproducteur**, c'est à dire la proportion moyenne de volume qu'une femelle investit dans la reproduction par jour.

Afin d'étudier le plus finement possible la dynamique de l'investissement dans la reproduction au cours de la vie, nous avons construit cette dernière variable qui intègre la fécondité, la taille des œufs, l'intervalle entre ponte et la taille de la femelle au moment de la ponte. Le taux d'investissement reproducteur est égal au volume d'œuf produit par une femelle lors d'une ponte rapportée au volume de la femelle estimée au moment de la ponte et à l'intervalle écoulé depuis la dernière ponte (ou depuis l'éclosion s'il s'agit de la première ponte). Étant donné que nous ne disposons pas de mesures systématiques pour toutes les pontes de la taille des œufs, nous avons complété les données manquantes en utilisant la moyenne pour chaque clone et chaque environnement de la taille des œufs. Cette moyenne provient d'un modèle mixte dans lequel l'effet *clone* est placé en effet aléatoire et l'effet traitement en effet fixe. La structuration des mesures individuelles de taille d'œufs par ponte et par individus au sein d'un *clone* est prise en compte en incluant en effet aléatoire le facteur *ponte*, niché au sein du facteur *individu*, lui même niché au sein du facteur *clone*. Nous avons converti les mesures de longueur corporelle des femelles au moment de la ponte en mesures de volume à l'aide de l'Équation 1, page 39.

²⁹ Il est dès lors possible dans certains cas de ne trouver aucune héritabilité significative alors que globalement le trait l'est en moyenne.

B III 2) Survie

B III 2 a) Longévité

L'analyse des données de survie a été effectuée en plusieurs étapes.

○ Modèles de survie non paramétrique

Nous avons tout d'abord étudié les effets génétiques et environnementaux sur le processus de mortalité au moyen d'un modèle non paramétrique de Cox. Ceci permet de tester ces effets et d'estimer les risques relatifs associés à chacun des facteurs. La fonction *coxph* du package *survival* de R a été utilisée pour ce faire. Afin de ne pas trop contraindre la forme de la fonction de risque sous-jacente, l'option *strata* a été utilisée ce qui permet d'avoir une fonction de risque par niveau de facteur. Par exemple l'estimation des risques relatifs associés à chaque clone a été effectuée en utilisant une fonction de risque différente pour chaque traitement (cf. Chapitre 1C II 3) page 20 pour des détails).

○ Estimation des héritabilités

Dans un second temps, une estimation de l'héritabilité de la longévité et de sa plasticité a été effectuée au moyen d'un modèle mixte classique (*lme*) en analysant le logarithme de la longévité et en excluant les quelques individus perdus au cours de l'expérience (8 individus sur 220). Le modèle comporte en effet fixe l'effet du *régime de nourrissage* et en effet aléatoire l'effet *clone* et l'effet du *régime de nourrissage*.

○ Modèles paramétriques et fonction de risque

Enfin l'analyse de survie non paramétrique a été complétée par une analyse paramétrique en ajustant et comparant quatre fonctions de survie paramétriques en temps continu. Ceci permet ensuite de préciser la forme et les différences de formes des fonctions de risque associées à chacun des groupes d'individus identifiés.

B III 2 b) Durée de vie post-reproduction

Nous avons ensuite analysé au moyen d'un modèle mixte la durée séparant le dernier évènement de reproduction de la mort de l'individu afin d'en estimer la plasticité et l'héritabilité.

B III 3) Survie et reproduction

○ Reproduction précoce et survie

Nous avons étudié l'existence d'un compromis entre reproduction précoce et survie en calculant pour chaque individu son **investissement reproducteur précoce**, c'est à dire le nombre d'œufs qu'il a pondus par semaine en moyenne au cours des 40 premiers jours de sa vie. Avant 40 jours, la plupart de la sénescence de reproduction n'a pas encore commencé à se manifester (Figure 87) et la plupart des individus (87%) sont encore vivants. Les analyses ont été effectuées sur les individus morts après 40 jours à l'aide d'un modèle non paramétrique de Cox.

De la même manière la possibilité d'une influence de la **précocité de la maturation** sur la longévité a été étudiée au moyen d'un modèle de Cox.

○ Corrélations entre survie et reproduction

La recherche de corrélations phénotypiques et génétiques entre longévité et différentes mesures de la reproduction (succès reproductif total, effort reproducteur, reproduction précoce) a été effectuée en utilisant la méthode détaillée au Chapitre 1C III 3), page 21.

C Résultats

C I Manifestations physiologiques et comportementales du vieillissement

Le suivi des collemboles de la naissance jusqu'à leur mort a permis d'observer une série de changements quant à leur apparence et à leur comportement. Ces observations n'ont pas fait l'objet de mesure ou quantification systématique et ne sont donc rapportées que comme simples faits.

○ Problèmes moteurs

Pour un certain nombre de collemboles en fin de vie des problèmes locomoteurs apparaissent. Les individus se déplacent avec difficulté, la démarche est hésitante. Les pattes tremblent parfois et pour certains, la mobilité devient impossible. Cependant la mort ne s'ensuit pas forcément même lorsque le collembole est complètement paralysé. Nous avons pu observer par exemple une femelle appartenant au clone BV qui a survécu plus d'un mois sans pouvoir bouger ni même se tenir redressée (Figure 69, gauche) et donc sans pouvoir non plus se nourrir. En fin de vie, les collemboles ne sont parfois plus agités que par de faibles mouvements des antennes. Dans toutes les expériences, les collemboles ont été considérés comme morts dès lors qu'il n'étaient plus agités d'aucun mouvement et ne répondaient plus à aucun stimulus.

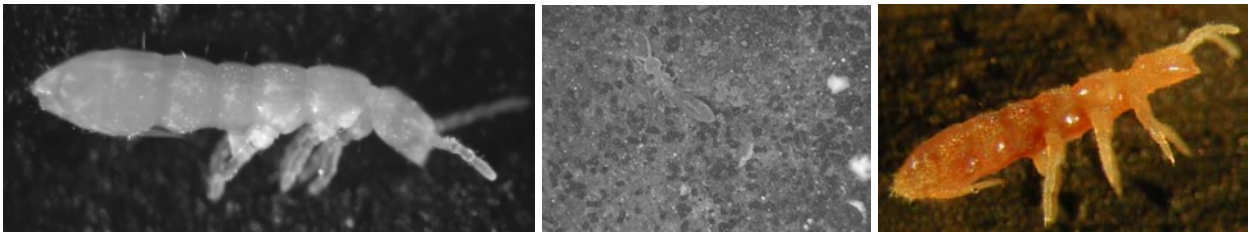


Figure 69 Différents aspects de détérioration du soma en fin de vie. À gauche, femelle ayant perdu sa mobilité mais survivant plus d'un mois sans bouger. Au centre : Individu BV2- mort dans sa boîte après 320 jours au cours desquels il a pondu 83 œufs. Remarquer que la couche d'argile recouvrant le plâtre de la boîte a été entièrement mangée par le collembole et ne persiste que sous forme de pelotes fécales. À droite, aspect d'un individu 1 à 2 jours après sa mort

○ Pourrissement du soma

Pour un certain nombre d'individus, nous avons pu observer un pourrissement de certaines parties du corps, tels que l'extrémité de l'abdomen (Figure 70) ou bien certains segments antennaires (Figure 71). L'individu peut continuer à survivre ainsi plusieurs semaines mais la mort s'ensuit en général assez rapidement.



Figure 70 Différents aspects de détérioration du soma en fin de vie. À gauche, deux clichés d'une femelle âgée de 11,5 semaines mourante. Remarquer la partie distale de son abdomen nécrosée et les antennes fusionnées. Au centre, une femelle du clone AP présentant aussi une nécrose abdominale. Les deux femelles proviennent du régime à nourriture abondante. À droite, aspect d'un collembole âgé, venant de mourir.

○ Gonflement

La mort est assez souvent précédée par un gonflement du corps. Le collembole devient distendu et translucide (Figure 71) et peut survivre ainsi plusieurs jours. Les causes d'un tel phénomène restent à notre connaissance inconnues. Chez le nématode *Caenorhabditis elegans*, le même type d'observation a été fait, les nématodes deviennent souvent translucides avant de mourir (Taddei, communication personnelle).



Figure 71 Femelle AP6- (nourriture rare) présentant une nécrose d'une antenne au bout de sa 35^{ème} semaine. Remarquer l'aspect translucide du corps quelques jours avant la mort.

C II Patrons de reproduction

Les patrons de reproduction sont caractérisés par le nombre de pontes, l'intervalle de ponte, la taille de ponte (et les effets de l'âge et de la taille maternelle), la taille des œufs, la proportion d'œufs stériles, les taux d'investissement reproducteur et le succès reproductif total.

C II 1) Nombre de pontes

Le nombre de pontes produites par une femelle au cours de sa vie varie fortement entre individus. Si l'on exclut les femelles mortes accidentellement, ce nombre varie entre 0 et 22 (Figure 72), la médiane étant de 6 pontes.

○ Régime de nourrissage

Le nombre de pontes produites ne varie pas significativement en fonction du régime de nourrissage ($\chi^2_1=2.18$, $P=0.14$) mais la variance du nombre de ponte est réduite lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=18.37$, $P<.0001$). Elle ne représente alors que 63% de la variance du trait lorsque la nourriture est rare (Figure 72).

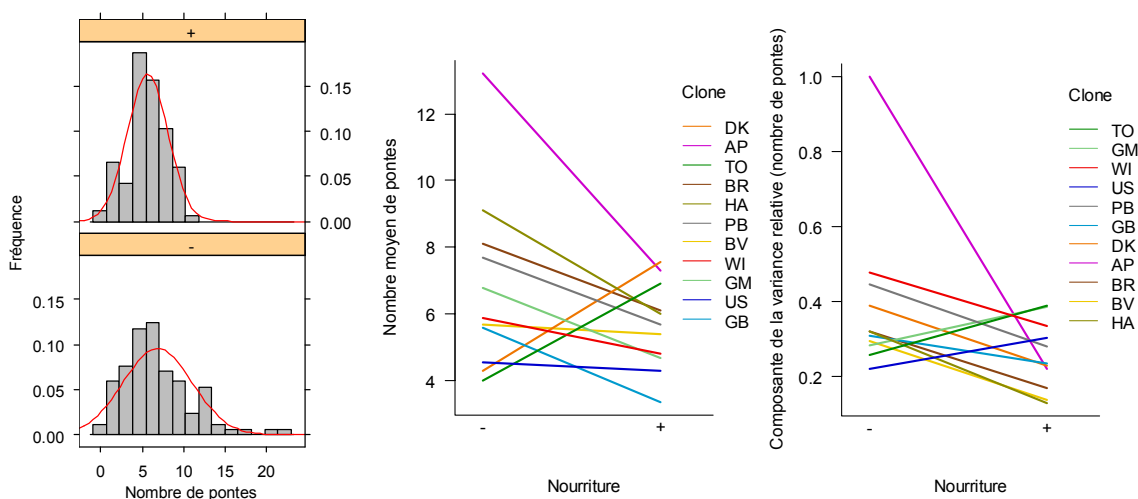


Figure 72 Histogramme du nombre de pontes dans les deux environnements de ressources et normes de réaction pour la moyenne et la variance relative de chacun des clones.

○ Effets génétiques

La plasticité du nombre de ponte en fonction du régime de nourrissage diffère entre clones ; elle est de ce fait héritable ($\chi^2_1=12.4$, $P=0.0004$, $h^2=20.8\%$). En effet on peut observer sur la Figure 72 que lorsque la nourriture est rare, le nombre moyen de pontes produites par certains clones diminue (DK, TO), pour d'autres clones, il reste stable (US, BV) alors que pour d'autres encore, le nombre de pontes produites au cours de la vie augmente lorsque la nourriture est rare (GB, GM, PB, BR, HA, AP). Le record reste entre les pattes des femelles de AP qui non seulement produisent le plus grand nombre de pontes lorsque les ressources sont abondantes, mais parviennent à presque doubler le nombre de pontes produites dans un environnement à nourriture rare (nour. *ad libitum* : 7.3 pontes; nour. rare : 13.2 pontes).

Dans chaque environnement, le nombre de pontes est héritable. De surcroît, la variance génétique est plus élevée lorsque la nourriture est rare ($h^2=35.5\%$, $\chi^2_1=21.8$, $P<0.0001$; nourriture abondante : $h^2=18.5\%$, $\chi^2_1=6.77$, $P=0.009$).

C II 2) Taille des pontes

Le nombre d'œufs pondus lors d'une ponte est très variable, s'échelonnant de 1 à 178 œufs.

○ Régime de nourrissage

La taille de ponte moyenne d'un collembole moyen est de 18.2 œufs lorsque les ressources sont rares et de 62.3 œufs lorsque les ressources sont abondantes, ce qui représente une augmentation d'un facteur 3.4 ($\chi^2_1=250$, $P=0$).

La variance de la taille de ponte diffère aussi entre environnements ($\chi^2_1=668$, $P=0$) : elle est 3.1 fois plus élevée lorsque la nourriture est abondante (Figure 73).

○ Effets génétiques

Il existe une variabilité génétique sur la plasticité de la taille moyenne de ponte ($h^2=27.7\%$; $\chi^2_1=39.6$, $P<0.0001$). On peut remarquer sur la Figure 73 la plasticité très prononcée du clone TO, celle relativement réduite de GB et le déploiement en éventail des normes de réaction. Dans l'environnement où la nourriture est rare il n'existe en fait pas de variabilité génétique sur la taille des pontes ($\chi^2_1=2.63$, $P=0.10$) alors que la taille de ponte devient héritable lorsque la nourriture est présente ($h^2=16.10\%$, $\chi^2_1=27.5$, $P<0.0001$). On peut remarquer que les clones se séparent en plusieurs groupes distincts lorsque la nourriture est abondante. Les clones HA, BR, BV et GB forment un groupe produisant des pontes de taille plus réduite que les autres clones (Figure 73). Le clone TO se démarque quant à lui par des tailles de pontes bien supérieures aux autres clones lorsque la nourriture est abondante.

Enfin 21% de la variance provient des différences entre femelles au sein d'un clone et d'un environnement ($\chi^2_1=117$, $P=0$). La variance résiduelle représente 41% de la variance non expliquée et provient des différences de taille de ponte entre les pontes d'une même femelle.

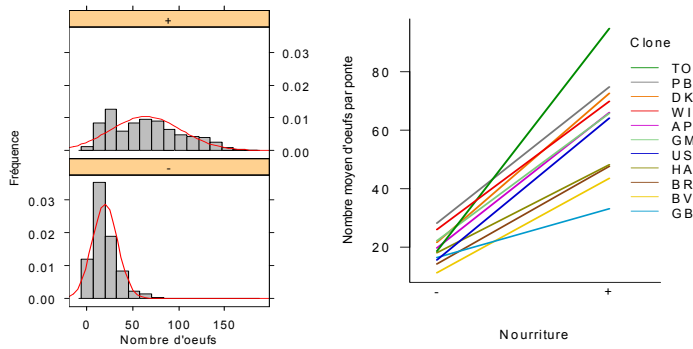


Figure 73 Taille de ponte (nombre d'œufs) : histogramme et normes de réaction des tailles de pontes dans les deux environnements.

○ Héritabilité et rang de ponte

Nous analyserons par la suite plus en détail les facteurs physiologiques qui semblent influencer sur la taille de ponte. Mais avant cela, nous pouvons étudier la manière dont l'héritabilité de la plasticité de la taille de ponte et l'héritabilité de la valeur de taille de ponte dans les deux environnements changent au cours des différents événements de reproduction des individus (rang de ponte).

Pour cela nous avons calculé à nouveau l'héritabilité des traits mais pour chaque ponte successive. Lorsque la nourriture est rare, l'héritabilité reste très faible et non significative tout au cours de la vie des individus. Lorsque la nourriture est abondante, l'héritabilité de la taille de ponte est significative au moins pour les six premières pontes. Le nombre d'individus ayant pondu plus de six pontes diminue et avec lui la quantité de données pour calculer l'héritabilité. Bien que toujours significative pour les six premières pontes, l'héritabilité de la taille de ponte est assez réduite pour les trois premières pontes (autour de 20%) puis augmente brusquement autour de 40-50% pour les quatrième, cinquième et sixième pontes (Figure 74, droite). Cette augmentation s'accompagne d'une augmentation en parallèle de l'héritabilité de la plasticité. Ainsi les différences génétiques concernant le potentiel reproducteur demandent le temps de plusieurs pontes après maturation avant de s'exprimer pleinement.

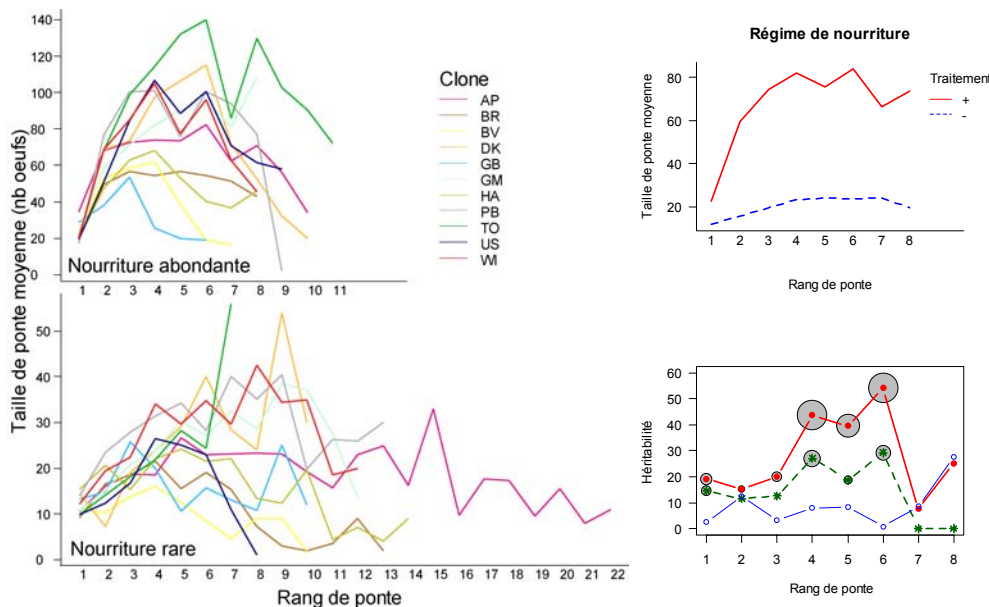


Figure 74 Fécondité et rang de ponte. À gauche: fécondité moyenne par clone au cours des pontes successives effectuées par un individu tout au long de sa vie dans chacun des deux environnements de nourriture. À droite : héritabilité de la taille de ponte lorsque la nourriture est rare (cercles ouverts et ligne fine continue bleue) ou abondante (cercles fermés et ligne épaisse continue rouge) et de la plasticité (étoiles et ligne pointillée verte) pour les huit premières pontes. Les disques gris soulignent les valeurs d'héritabilité significativement différentes de zéro, la surface du cercle étant proportionnelle à la valeur du χ^2 du test correspondant.

○ Sénescence reproductive

Au cours des pontes successives, la taille de ponte des collemboles augmente puis, après avoir atteint un maximum autour de la cinquième ponte, tend à diminuer (Figure 75). Si l'on modélise la taille de ponte comme une fonction polynomiale (degré 3) du rang de ponte et du traitement de nourrissage, on observe une augmentation de la taille de ponte avec le rang ($\chi^2_1=236$, $P=0$). Cette augmentation est plus marquée lorsque la nourriture est abondante (χ^2_1 interaction=186.0, $P=0$, +2.2 œufs par ponte en nourriture rare contre +30 œufs par ponte en nourriture abondante). On observe ensuite un effet global négatif du carré du rang de ponte marquant la décroissance de la taille de ponte qui suit ($\chi^2_1=178$, $P=0$). Cette décroissance est aussi plus marquée lorsque la nourriture est abondante (χ^2_1 interaction=157.9, $P=0$, -0.14 œufs par numéro au carré pour la nourriture rare et -3 œufs par rang de ponte au carré en nourriture abondante). Enfin, il existe un effet positif du terme cubique ($\chi^2_1=130$, $P=0$) soulignant un ralentissement de la décroissance lié au terme quadratique. Ce ralentissement est à nouveau plus marqué pour le traitement à nourriture abondante (+0.041 par rapport 0.02 en nourriture rare). Ces trois effets sont visibles sur la Figure 75.

D'autre part, au sein de chaque environnement, il existe une variance génétique de ces effets. Lorsque la nourriture est abondante, une variance génétique est détectée pour la valeur à l'origine ($P=0.006$), l'effet linéaire du rang de ponte ($P<.0001$) et l'effet cubique ($P=0.0001$). En régime restrictif, une variance génétique est observée sur les termes quadratique ($P<.0001$) et cubique ($P=0.0001$). À partir de ces modèles mixtes sélectionnés sont présentées sur la Figure 75, à gauche, les courbes prédites pour un individu moyen d'un clone moyen dans les deux environnements et à droite, les courbes prédites pour un individu moyen pour chacun des clones dans les deux environnements.

On peut remarquer que lorsque la nourriture est abondante, la sénescence de fécondité est d'autant plus précoce en terme de rang de ponte que la fécondité maximale est faible, les clones GB et TO matérialisant les deux stratégies extrêmes. D'autre part, on observe que la sénescence de fécondité est d'autant plus abrupte et irrémédiable que la fécondité maximale des clones est grande. Ainsi, par exemple la chute de fécondité des clones exprimant les plus fortes fécondités (TO, DK, PB, US et WI) est brutale et continue alors que celles des autres clones est soit insignifiante (GM) soit lente et de plus en plus douce, se soldant même chez certains clones par un redressement (AP, BR, HA).

Ces clones-là expriment d'ailleurs le même type de réponse en restriction alimentaire avec un ralentissement de la chute de fécondité et une réaugmentation de la fécondité moyenne au cours des dernières pontes.

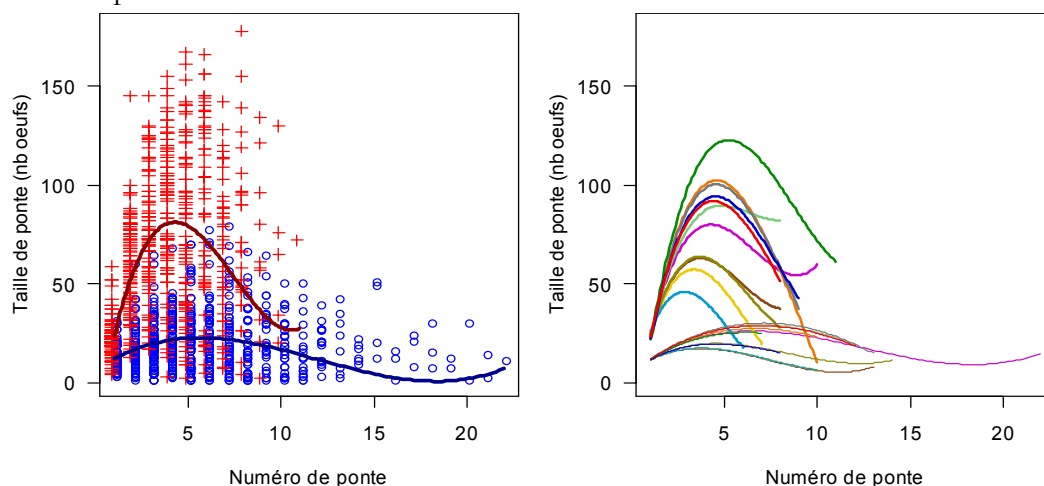


Figure 75 Effet du régime de nourrissage et du rang de la ponte sur la taille de ponte. À gauche : nourriture rare : cercles bleus; nourriture abondante : croix rouges. Les courbes polynomiales cubiques ajustées représentent la valeur attendue pour un collemboule moyen issu d'un clone moyen. À droite, les courbes polynomiales cubiques ajustées pour chacun des clones (identifiés par leur couleur habituelle) dans les deux environnements (trait épais : nourriture abondante, trait fin : nourriture rare).

C II 3) Intervalles entre pontes

Le succès reproductif des individus va dépendre non seulement du nombre d'œufs qu'ils vont produire mais aussi de la rythmicité des pontes. Cette rythmicité peut être mesurée en étudiant l'intervalle entre deux pontes. Dans cette analyse, nous ne considérerons pas le délai précédant la première ponte qui correspond à l'âge à maturité déjà étudié plus haut. L'intervalle entre deux pontes successives varie de 3.25 à 172 jours. La distribution de ces intervalles est très asymétrique : alors que 95% des valeurs mesurées sont inférieures à 32 jours, 5% des intervalles sont particulièrement longs et concernent essentiellement des individus âgés dans l'environnement à faible nourriture (Figure 76).

○ Régime de nourrissage

Lorsque la nourriture est rare les pontes sont en moyenne plus espacées que lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=18.7$, $P<.0001$). Un collembole moyen pond en moyenne tous les 10.8 jours lorsque la nourriture est abondante et tous les 18.4 jours quand elle est rare. Mais étant donné la distribution très asymétrique de ces données, la médiane, moins sensible aux valeurs extrêmes, a plus de sens. L'intervalle médian entre ponte vaut ainsi 8.4 jours en nourriture abondante et 13.7 jours en nourriture rare.

L'intervalle entre pontes est beaucoup moins variable lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=690$, $P=0$, variance abondante=0.31 x rare) et ceci même si l'on ne tient pas compte des 5% de valeurs extrêmes ($\chi^2_1=9.69$, $P=0.002$, var abondante=0.88 x rare).

○ Effets génétiques

Nous pouvons mettre en évidence une héritabilité faible mais significative de la plasticité de l'intervalle moyen entre deux pontes successives ($h^2=2\%$, $\chi^2_1=8.57$, $P=0.003$). Sur les normes de réaction présentées sur la Figure 76, on peut nettement observer que si l'intervalle entre ponte augmente pour tous les clones lorsque la nourriture est rare, l'augmentation est plus forte pour le groupe de clone AP, GB, BR, BV et HA.

Au sein de chaque environnement, la durée est héritable (nourriture rare : $h^2=9.4\%$, $\chi^2_1=26.29$, $P<.0001$; nourriture abondante : $h^2=16.3$, $\chi^2_1=40.9$, $P<.0001$). À nouveau, au sein de chaque environnement, deux groupes de clones se démarquent (Figure 76), les clones AP, GB, BR, BV et HA pondant en moyenne de manière plus espacée que les clones DK, GM, PB, TO, US et WI.

L'héritabilité de la plasticité et de la valeur de l'intervalle entre deux pontes en fonction du rang de la ponte est figurée sur la Figure 78. La plasticité de l'intervalle n'est héritable que pour la première ponte ce qui correspond à l'âge à maturité. Alors que lorsque la nourriture est rare l'intervalle entre deux pontes n'est jamais significativement héritable, il l'est lorsque les ressources sont abondantes. Cependant l'héritabilité qui est forte pour la première ponte tend à diminuer à mesure que les pontes s'enchaînent (Figure 78 centre) et résulte principalement comme nous l'avons vu de la maturité tardive de GB. L'héritabilité globale mesurée lorsque la nourriture est rare est donc sans doute due à l'intervalle inter-ponte particulièrement grand pour les dernières pontes (au delà de la huitième ponte, Figure 77).

On ne détecte pas de structuration significative de la variance entre les différents individus au sein d'un clone et d'un environnement ($\chi^2_1=0.23$, $P=0.63$).

○ Effet de l'âge

L'intervalle entre pontes augmente à mesure que le collembole vieillit ($\chi^2_1=121$, $P=0$) et ceci de manière légèrement différente selon le régime de nourrissage ($\chi^2_1=4.23$, $P=0.004$). L'augmentation de l'intervalle entre ponte est plus rapide lorsque la nourriture est rare. Ainsi un collembole moyen met en moyenne 0.84 jours de plus après chaque ponte avant de pondre la suivante lorsque la nourriture est abondante et 1.28 jours de plus lorsque la nourriture est rare (Figure 78). On peut remarquer sur les

Figure 76 et Figure 77 que l'intervalle peut devenir très grand, de l'ordre de plusieurs mois pour les pontes tardives des vieilles ou très vieilles femelles.

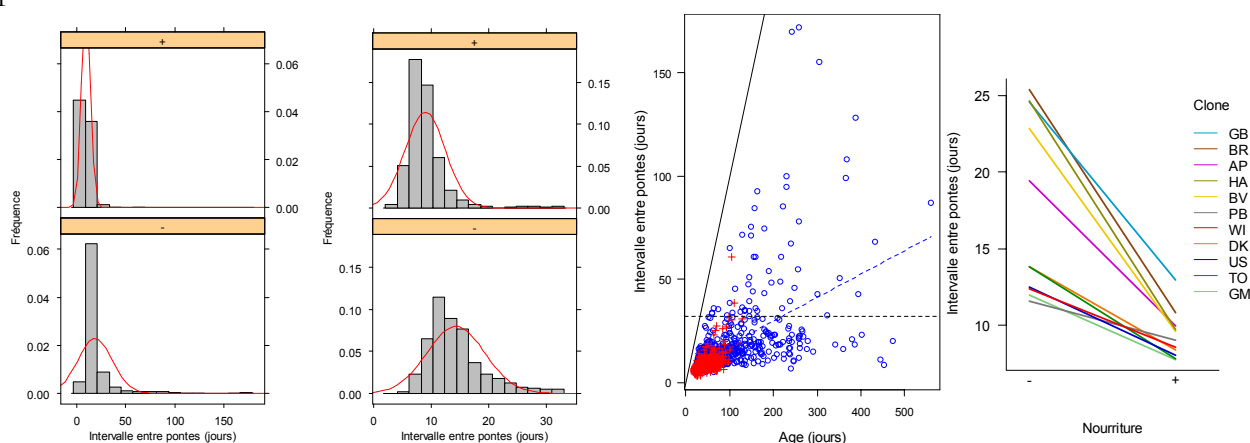


Figure 76 À gauche, distribution des intervalles entre pontes (mesurées à partir de la deuxième ponte) en fonction des environnements. Sur les histogrammes de la colonne de droite, les 5% des valeurs les plus grandes ne figurent pas. Au centre, intervalle entre ponte en fonction de l'âge du collembole et du régime de nourrissage (croix rouges : abondante, cercles bleus : rare). 95% des valeurs mesurées se trouvent en deçà de la ligne horizontale pointillée. À droite, normes de réaction pour l'intervalle inter-ponte.

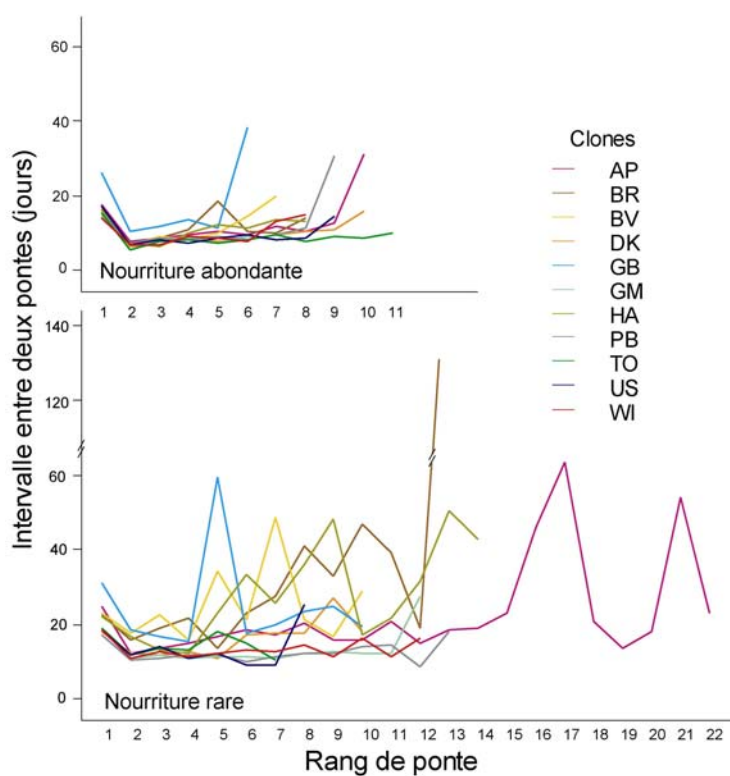


Figure 77 Intervalles moyens entre deux pontes successives en fonction du rang de la ponte pour les 11 clones dans les deux environnements.

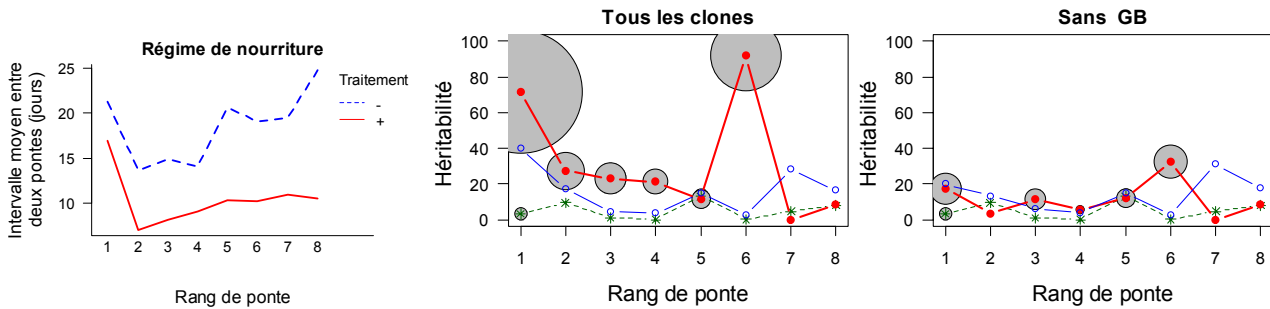


Figure 78 À gauche : durée moyenne d'intervalle entre pontes au cours des huit premières pontes dans les deux régimes de nourriture (pointillé : rare, continu : abondante). Au centre : l'héritabilité de la plasticité (étoiles, ligne verte et pointillée) et de la valeur de l'intervalle entre deux pontes dans l'environnement à nourriture rare (cercles vides bleus et trait fin) ou abondante (cercles rouges pleins et trait continu gras). Les valeurs significativement différentes de zéro sont marquées d'un cercle gris dont le volume correspondant est proportionnel à la valeur du test. À droite, l'héritabilité est mesurée sans le clone GB.

C II 4) Effets de l'âge et de la longueur sur la taille de ponte

La taille de ponte est influencée par une interaction entre le régime de nourrissage, la taille de la femelle et son âge ($\chi^2_1=22.57$, $P<0.0001$). D'autre part l'effet simple de l'âge et de la taille du collembole sur sa fécondité diffèrent selon le régime de nourrissage ($\chi^2_1>12$, $P<0.0005$).

Sous les deux régimes de nourriture, la taille de ponte augmente avec la longueur du collembole ($\chi^2_1>65$, $P=0$) mais cette relation est bien plus prononcée (~ 3 fois) lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=44.7$, $P<0.0001$).

Alors que lorsque la nourriture est rare, il n'y a pas d'effet additif simple de l'âge sur la fécondité des collemboles ($\chi^2_1=2.63$, $P=0.10$) ; en présence de nourriture, une relation apparaît (χ^2_1 interaction âge x traitement = 12.2, $P=0.0005$) : les collemboles deviennent plus féconds lorsqu'ils vieillissent, par delà l'effet lié à leur taille. La Figure 79 le montre bien : on observe une augmentation de l'investissement reproducteur avec l'âge sous un régime de nourriture abondante (au moins au début) alors qu'aucune augmentation n'est visible lorsque la nourriture est rare.

Enfin, dans les deux environnements, la fécondité est affectée négativement par une interaction entre l'âge et la longueur. À nouveau cet effet diffère entre les deux environnements ($\chi^2_1=22.5$, $P<0.0001$) : il est 5 fois plus fort lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=41.9$, $P<0.0001$; nourriture rare $\chi^2_1=13.5$, $P=0.0004$). Ceci se matérialise sur la Figure 79 par la décroissance plus prononcée et marquée de l'investissement reproducteur avec l'âge lorsque la nourriture est abondante.

Nous avons étudié la variance génétique de ces effets dans les deux environnements.

Lorsque la nourriture est rare, il n'existe pas de variance génétique sur les effets simples de l'âge ou de la longueur ($P>0.11$) et quasiment pas sur la taille de ponte elle-même ($P=0.03$) mais l'interaction entre âge et longueur possède, elle, une variance génétique significative ($P=0.0001$).

Lorsque la nourriture est abondante, il n'existe pas de variance génétique sur l'interaction entre l'âge et la longueur ($P=0.57$) ni sur l'effet de l'âge simple ($P=0.62$) mais il existe une variance génétique sur la valeur à l'origine de la fécondité ($P<0.0001$) et sur l'effet de la longueur sur celle-ci ($P<0.0001$) : chez certains clones un accroissement de taille corporelle entraîne une forte augmentation de leur fécondité alors que cet effet se révèle moindre chez d'autres.

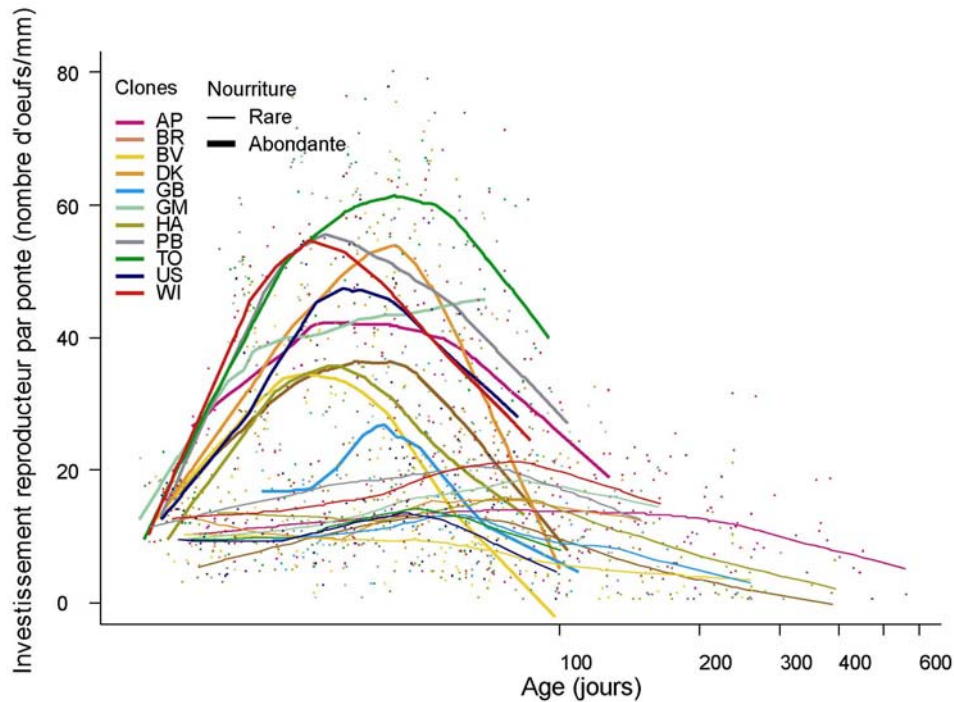


Figure 79 Pour chaque clone et au sein de chaque environnement, le changement de l'investissement reproducteur en fonction de l'âge du collembrole est matérialisé en ajustant une fonction polynomiale (courbe de régression locale pondérée, ajustée et lissée) aux données mesurées pour chaque événement de reproduction.

C II 5) Taille des œufs

La variance résiduelle de la surface des œufs est 1.23 fois plus grande en présence de nourriture abondante ($\chi^2_1=187$, $P<.0001$). Lorsque la nourriture est abondante, les œufs sont en moyenne plus gros de 6.4% en volume ($\chi^2_1=23.9$, $P<0.0001$).

La plasticité de la surface des œufs n'est pas héritable ($\chi^2_1=0.19$, $P=0.91$) mais la valeur moyenne l'est ($h^2=19.8\%$, $\chi^2_1=93.69$, $P<.0001$). On peut remarquer que les valeurs moyennes par clones forment deux groupes avec les clones AP, BR, BV, GB et HA qui pondent des œufs en moyenne plus petits que les autres clones.

Dans les deux environnements, la surface des œufs augmente en moyenne avec la longueur de la femelle ($\chi^2_1>11$, $P<0.001$). D'autre part, l'âge a une influence dépendante du traitement ($\chi^2_1=19.3$, $P<0.0001$) : alors que l'âge n'a pas d'influence sur la surface des œufs lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=0.25$, $P=0.61$), sous régime restrictif, les pontes issues de femelles âgées sont formées d'œufs plus petits ($\chi^2_1=25.2$, $P<0.0001$, Figure 80).

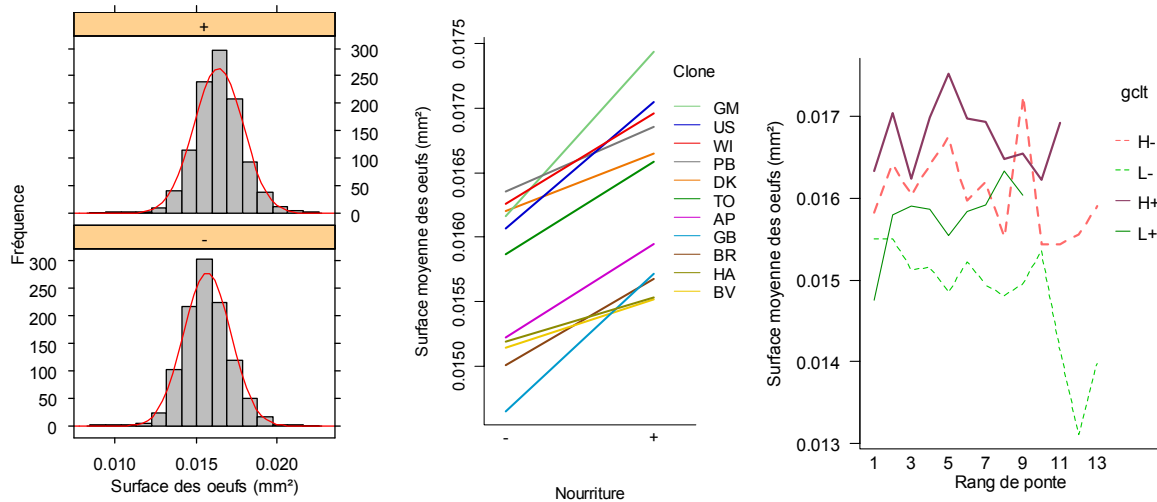


Figure 80 À gauche et au centre, histogramme et valeur moyenne par clone de la surface des œufs sous les deux régimes de nourriture. À droite mesures de tailles des œufs moyennes en fonction du rang de ponte pour les deux groupes de clones (AP, BR, BV, GB, HA en vert et trait fin, DK, GM, PB, TO, US et WI en violet et trait épais) sous les deux régimes de nourriture (nourriture abondante : trait continu, couleur foncée; nourriture rare : trait pointillé, couleur claire).

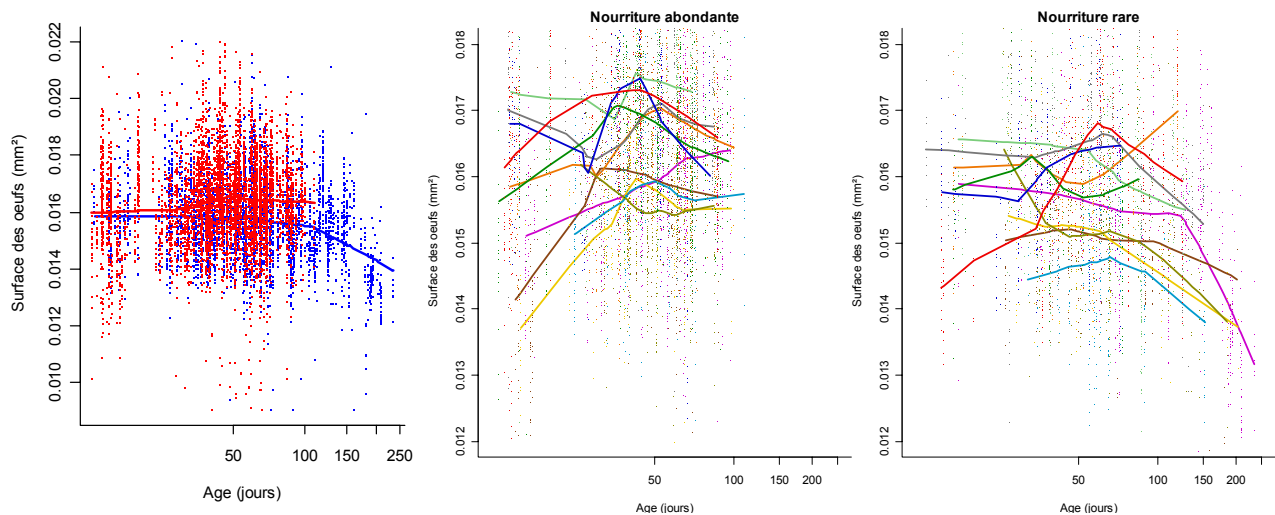


Figure 81 Mesures de tailles des œufs en fonction de l'âge (échelle log) : à gauche avec une courbe de régression locale pondérée, ajustée et lissée (Locally weighted regression scatterplot smoothing, LOWESS), ajustée pour chacun des deux régimes de nourriture (rouge : nourriture abondante, bleu: nourriture rare). Au centre et à droite, la fonction est ajustée pour chacun des clones dans les deux environnements.

C II 6) Proportion d'œufs stériles

Au sein d'une ponte, certains œufs ne se développent pas (cf. Chapitre 2D II 1 c), page 41). Nous avons pu mesurer le nombre d'œufs stériles pour 937 pontes. La proportion d'œufs stériles varie entre 0 et 100%. Cette proportion dépend du régime de nourrissage : un collembole moyen d'un clone moyen a en moyenne 9.9% de ses œufs qui ne se développent lorsque la nourriture est rare contre 12.2% lorsque la nourriture est abondante (+24%, $\chi^2_1=7.9$, $P=0.0049$).

Il existe une variance génétique significative sur la proportion d'œufs stériles ($\chi^2_1=113$, $P=0$) et l'héritabilité estimée est de $h^2=11.3\%$. En revanche il n'existe pas de variabilité génétique pour la plasticité ($\chi^2_1=0.81$, $P=0.75$).

D'autre part, la variance intraclone de la proportion d'œufs stériles diffère fortement entre les clones ($\chi^2_1=372$, $P=0$). Sur la Figure 82, on peut observer nettement que les clones se partagent en deux groupes distincts. Chez AP, BR, BV, GB et HA, une proportion importante d'œufs ne se développe

pas ; de plus, la variance de cette proportion est élevée pour ces clones. À l'opposé, les clones DK, GM, PB, TO, US et WI pondent des œufs dont la quasi totalité se développent. Le clone GM est remarquable : quasiment tous ses œufs sont fertiles.

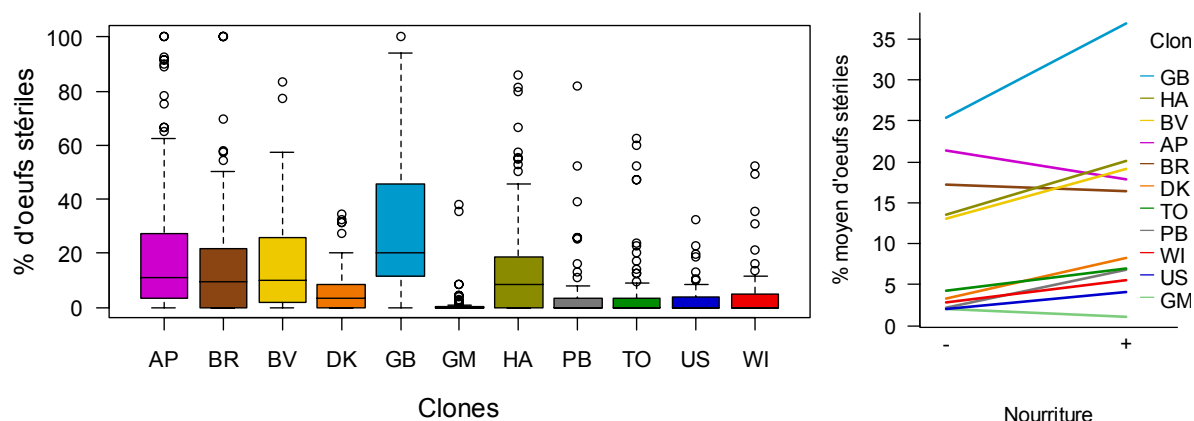


Figure 82 Pourcentage d'œufs stériles par ponte. À gauche : boîtes à moustache par clone; à droite : normes de réaction pour chacun des clones en fonction du régime de nourrissage (- : rare; + : abondante).

Nous avons ensuite étudié un éventuel effet de l'âge ($\log(\text{âge})$) sur la proportion d'œufs stériles. En moyenne, la proportion d'œufs stériles augmente avec l'âge des collemboles ($\chi^2_1=7.15$, $P=0.0075$) et ceci de manière identique dans les deux environnements ($\chi^2_1=2.75$, $P=0.097$, cf. Figure 83 gauche). Mais cet effet de l'âge présente lui-même une forte variance génétique ($\chi^2_2=11.7$, $P=0.0028$) : chez les clones DK, GM, PB, TO, US et WI, l'effet de l'âge est quasi nul ($<0.8\%$ par $\log(\text{jour})$) alors qu'il existe une sénescence de fertilité chez les autres clones (effet de l'âge $> 3.9\%$ par $\log(\text{jour})$, cf. Figure 83 droite).

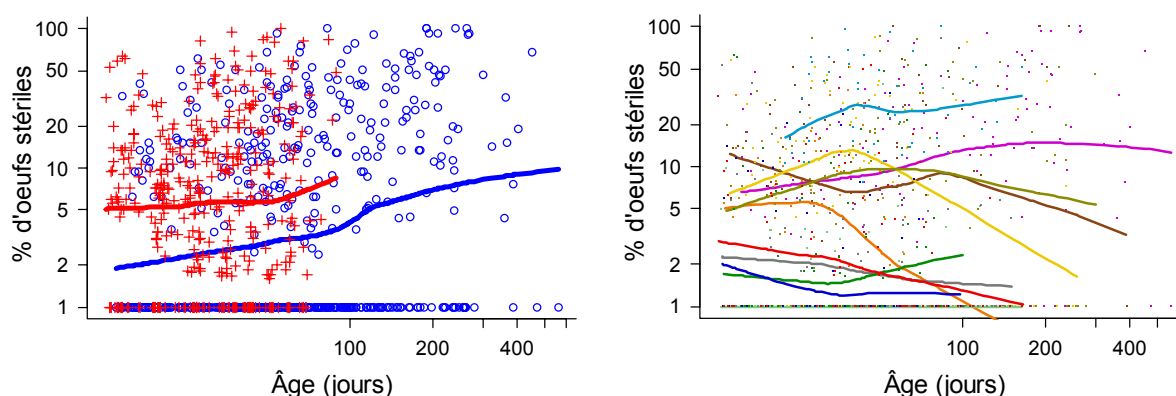


Figure 83 Pourcentage d'œufs stériles par ponte. À gauche, changement de la proportion en fonction de l'âge du collemboule lors de la ponte pour les deux environnements (croix rouges, nourriture abondante; ronds bleus, nourriture rare). À droite, mesures de la proportion d'œufs stériles en fonction de l'âge (échelle log). Une courbe de régression locale pondérée, ajustée et lissée (lowess, Locally weighted regression scatterplot smoothing) est ajustée pour chacun des clones.

C II 7) Taux d'investissement reproducteur

Nous avons vu que la fécondité est dépendante de l'environnement, de facteurs génétiques et de facteurs physiologiques, et qu'elle varie aussi au cours de la vie. En parallèle, l'intervalle entre les pontes varie. La taille des œufs, enfin, change entre clones et selon le régime de nourrissage. L'ensemble de ces effets nous conduit à définir et étudier une variable intégrative, **l'investissement relatif dans la reproduction (IRR)**, égal à la proportion moyenne de volume qu'une femelle investit dans une ponte par jour écoulé avant la ponte, depuis la précédente (exprimée ici en pourcentage).

C II 7 a) Régime de nourrissage

Pour chaque évènement de reproduction l'IRR varie entre 0.003% et 16%. Les valeurs très faibles correspondent essentiellement aux pontes très tardives constituées de quelques œufs voire un seul, après une longue période sans reproduction. Les quelques valeurs très élevées (>13%) correspondent en général à des femelles qui ont manifestement pondu une ponte en deux fois avec un intervalle entre les deux évènements de 3 jours environ. Cela correspond en fait à un seul cycle de reproduction et l'effort reproducteur associé à la deuxième moitié de la ponte est surestimé. De telles observations demeurent relativement rares.

L'IRR moyen varie fortement en fonction du régime de nourrissage ($\chi^2_1=30$, $P<.0001$). Il vaut en moyenne 0.8% par jour lorsque la nourriture est rare et est multiplié par 4.45 en régime de nourriture abondante (3.62%/jour). La variance du trait est 3.7 fois plus grande lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=362$, $P=0$).

C II 7 b) Effets génétiques

○ Plasticité

La plasticité de l'IRR moyen diffère entre les clones ($\chi^2_1=37.39$, $P<.0001$, $h^2=38\%$). Sur la Figure 84, on observe le déploiement des normes de réaction. À nouveau, le clone GB présente la plus faible plasticité quant à son investissement dans la reproduction et le clone TO la plus forte. Ce dernier investit relativement peu lorsque la nourriture est rare (contrairement à PB par exemple) mais dès lors que de la nourriture est présente, il investit très fortement dans la reproduction, avec en moyenne 5% de volume par jour au cours de sa vie reproductrice.

○ Moyenne

Sous les deux régimes de nourriture, l'IRR présente une variance génétique ($\chi^2_1>87$, $P<0.0001$). Contrairement à l'impression visuelle que donne la Figure 84, l'héritabilité est comparable dans les deux régimes (nourriture rare : $h^2=18\%$, nourriture abondante : $h^2=20.5\%$). Lorsque la nourriture est abondante la variance génétique augmente en même temps que la variance intra-clone.

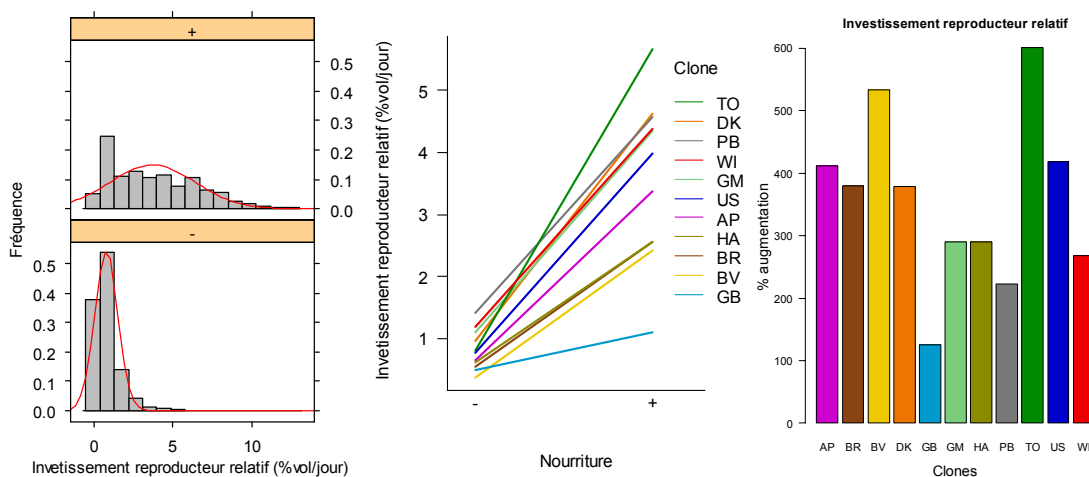


Figure 84 Distribution et moyenne dans chaque environnement et pour chaque clone de l'investissement reproducteur relatif (IRR) associé à chaque évènement de reproduction. À droite, pourcentage de changement de l'IRR par clone lorsque la nourriture est abondante.

C II 7 c) Effets du temps

Une observation de la moyenne par clone et par environnement de l'IRR en fonction du rang de la ponte met en évidence une croissance puis une diminution ainsi que de larges variations entre environnements et clones (Figure 85). Le même type de patron apparaît lorsque l'IRR est décrit en fonction de l'âge (Figure 87).

La dépendance de l'IRR à l'âge a été étudiée en incluant, en plus d'un effet fixe correspondant au régime de nourrissage, une fonction polynomiale de degré 3 du rang de ponte (cf. Chapitre 5C II 2). L'effet du régime de nourrissage interagit avec les paramètres de la fonction polynomiale ($P < 0.0001$). Dans les deux environnements, l'investissement reproducteur commence par augmenter avec l'âge ($P < 0.0001$), puis diminue ($P < 0.0001$). Dans les deux environnements, le coefficient du terme cubique est positif ($P < 0.0001$) indiquant un ralentissement de la réduction de l'IRR (Figure 88, gauche). Il existe, au sein de chaque environnement, une variation génétique sur les paramètres de la fonction polynomiale (Figure 88, droite).

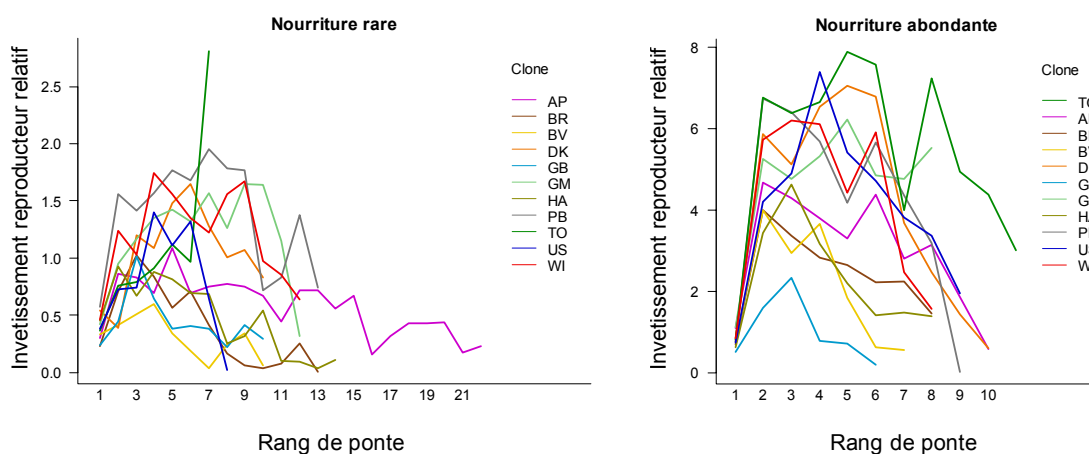


Figure 85 Changement de l'investissement reproducteur moyen (IRR % de volume investi dans la production de ponte par jour) pour chaque clone en fonction du rang de la ponte dans les deux environnements de nourriture.

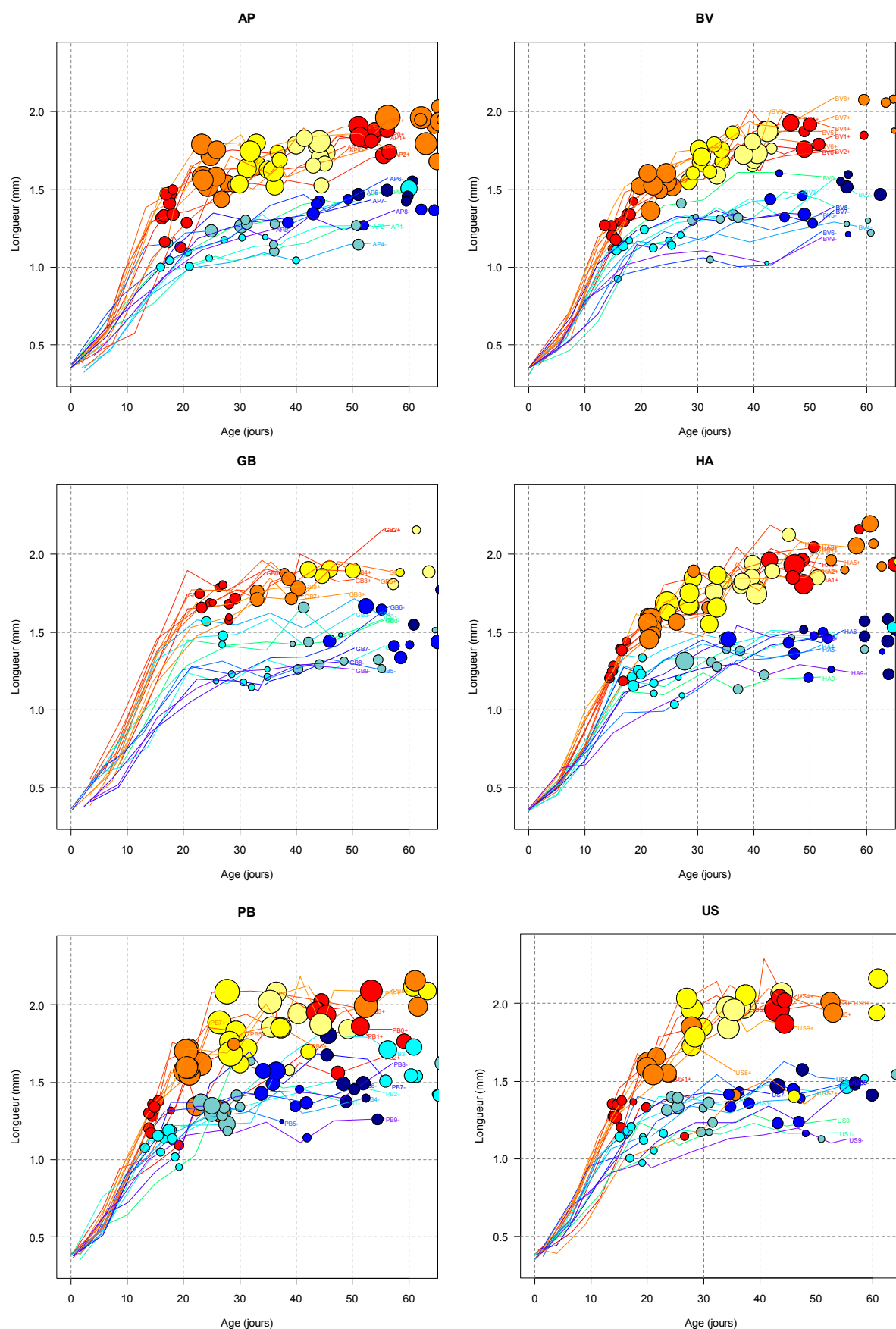


Figure 86 Quelques exemples de trajectoires de croissance et des premières pontes (60 jours) pour six clones. Les cercles symbolisent un évènement de reproduction. Le volume sous-jacent du cercle est proportionnel à l'effort reproducteur relatif effectué par la femelle lors de cette reproduction (%vol par jour).

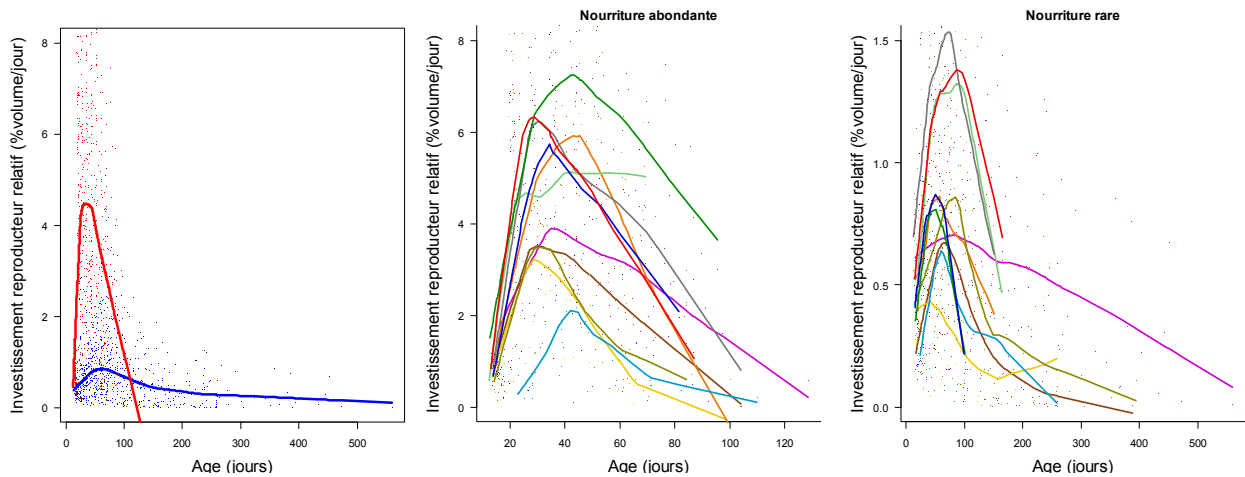


Figure 87 Investissement reproducteur relatif (IRR) en fonction de l'âge des collembolés. À gauche, comparaison des deux régimes de nourriture (bleu : nourriture rare, rouge : nourriture *ad libitum*). À droite, comparaison des clones dans chacun des deux régimes (au centre, nourriture abondante; à droite, nourriture rare). Les changements de reproduction avec l'âge sont mis en évidence par l'ajustement pour chaque groupe de données d'une courbe de régression locale pondérée, ajustée et lissée (lowess, Locally weighted regression scatterplot smoothing).

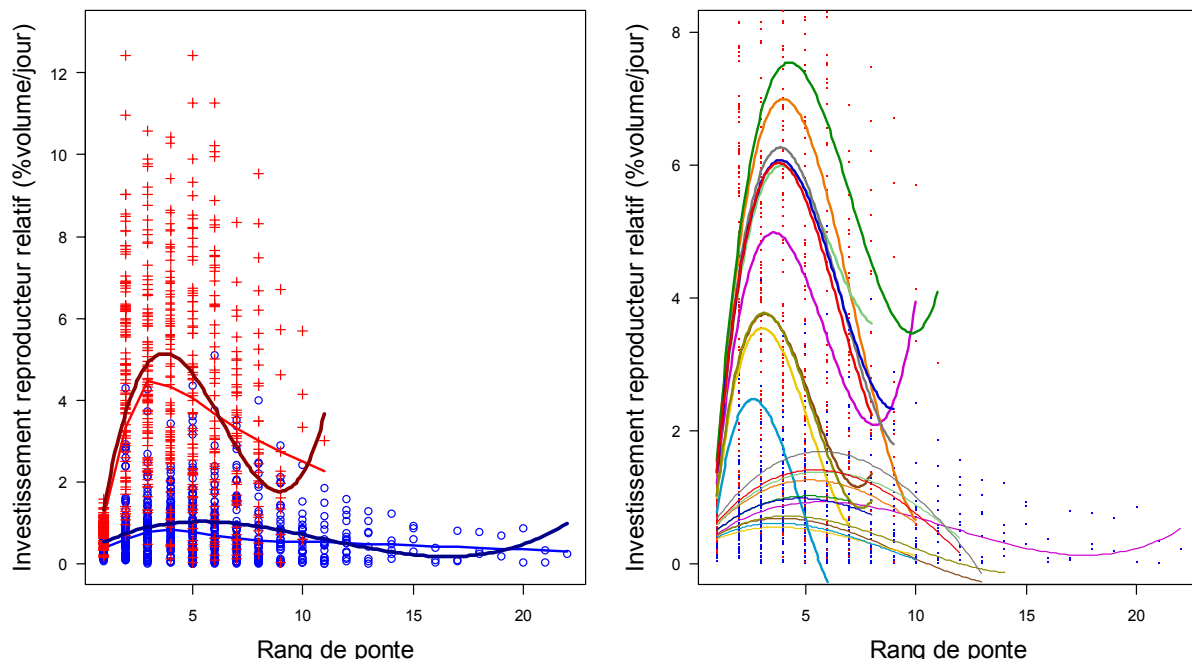


Figure 88 Investissement reproducteur relatif (IRR) en fonction du rang de ponte. À gauche sont figurées les données pour les deux régimes de nourriture (croix rouges : nourriture abondante; cercles bleus : nourriture rare) avec une courbe de régression locale pondérée, ajustée et lissée (lowess, Locally weighted regression scatterplot smoothing) superposée à la fonction polynomiale prédite par le modèle statistique sous-jacent. À droite, représentation des effets génétiques sur les paramètres des fonction polynomiales pour les deux environnements.

De même que pour la taille de ponte (Figure 74), l'héritabilité de l'investissement reproducteur relatif tend à augmenter avec le rang de ponte et semble être maximale pour les quatrième, cinquième et sixième pontes (Figure 89).

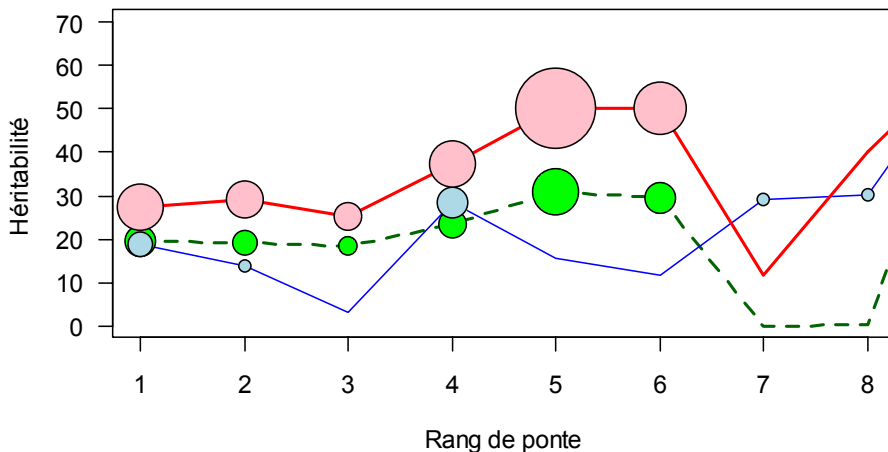


Figure 89 Variation de l'héritabilité de l'investissement reproducteur relatif (IRR) pour les différents pontes. cf. légende de la Figure 39, page 67.

C II 8) Succès reproductif total

La valeur sélective d'un individu peut être grossièrement estimée par le nombre total d'œufs qu'il va produire au cours de sa vie. Cette valeur, pour les individus morts de mort "naturelle"³⁰ varie entre 7 et 1298 œufs pondus au cours d'une vie.

C II 8 a) Régime de nourrissage

Lorsque la nourriture est abondante, le succès reproductif est supérieur ($\chi^2_1=12.3$, $P<0.0001$) : un collembole moyen d'un clone moyen pond 135 œufs en restriction alimentaire contre 367 œufs lorsque la nourriture est abondante (x 2.7). La variance du trait se trouve elle-même augmentée d'un facteur 1.9 ($\chi^2_1=35.8$, $P<0.0001$).

C II 8 b) Effets génétiques

○ Plasticité

La plasticité du succès reproductif total présente une composante génétique ($h^2=39.7\%$, $\chi^2_1=9.8$, $P=0.0017$) qui s'observe facilement sur la Figure 90 : alors que les clones AP, PB, WI, GM, US, BR, BV et HA ont des normes de réaction quasi parallèles, les clones TO et DK se démarquent fortement par des normes de réaction très pentues : ces clones sont capable de multiplier par 5 ou 7 leur succès reproductif total (contre ~3 pour les autres clones) lorsque les conditions de nourrissage sont bonnes. Cette plasticité spectaculaire est due à la fois à la mauvaise performance en fécondité de ces clones dans l'environnement pauvre et à leur énorme capacité reproductive lorsque des ressources sont disponibles. À l'autre extrême se démarque une fois encore notre cher GB qui présente pour sa part une plasticité nulle voire même légèrement négative pour le succès reproductif total. Ce clone semble incapable d'ajuster la quantité d'œufs qu'il va produire en présence de ressources abondantes.

○ Moyenne

Dans les deux environnements, le succès reproductif total est héritable. Cependant, sans doute à cause de l'expression de stratégies de reproduction extrêmes lorsque le nourrissage est continu, l'héritabilité mesurée est plus forte dans ces conditions ($h^2=35.3\%$, $\chi^2_1=20.7$, $P<0.0001$; nourriture rare : $h^2=18.8\%$, $\chi^2_1=7.8$, $P=0.005$).

³⁰ C'est à dire non tués par l'expérimentateur ou non perdus au cours de l'expérience

On peut enfin noter le croisement remarquable des normes de réaction de certains clones, tels que TO et AP : si TO pond en moyenne plus d'œufs lorsque la nourriture est abondante, AP le supplante largement lorsque les ressources sont rares.

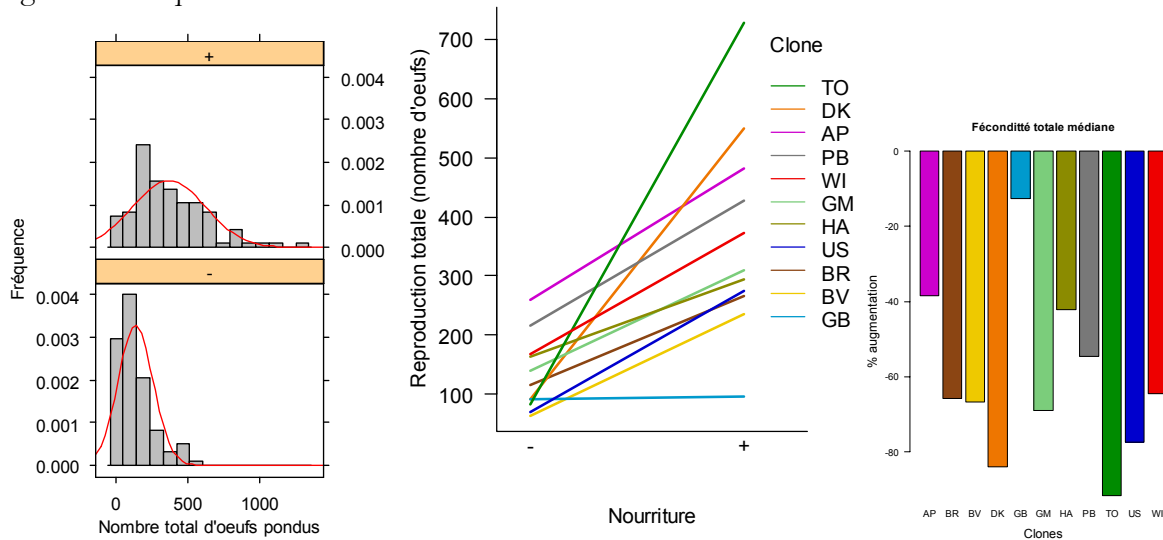


Figure 90 Histogrammes (à gauche) et moyennes pour chaque clone (au centre) dans chacun des environnements du succès reproductif total (nombre d'œufs pondus au cours de la vie). À droite, variation (en pourcentage) de la fécondité totale médiane par clone lorsque la nourriture est rare.

C III Patrons de survie

La durée de vie des collemboles est très variable. La première mort naturelle d'un collembole est survenue au bout de 20,5 jours et la dernière femelle (AP) a vécu 571 jours (plus de 1,5 an).

C III 1) Modèle de survie non paramétrique

La survie a tout d'abord été étudiée au moyen d'un modèle des risques proportionnels de Cox avec comme covariables, le régime de nourrissage et les clones.

La survie dépend d'une interaction entre les clones et le traitement ($\chi^2_{10}=43$, $P<0.0001$) ce qui indique l'existence de variabilité génétique sur la plasticité de la survie en réponse au régime de nourrissage. En effet, si, en moyenne (sur l'ensemble des clones), une alimentation *ad libitum* augmente le risque de mortalité d'un facteur 4.6 (se=0.193, $\chi^2_1=79$, $P=0$), cet effet est en pratique très différent d'un clone à l'autre. En se basant sur un modèle avec une seule fonction de risque de base, le risque de mortalité d'un collembole AP ou BR est 31 fois plus élevé quand il est bien nourri qu'en restriction alimentaire alors que pour les clones TO ou DK, ce risque ne change pas (Figure 91).

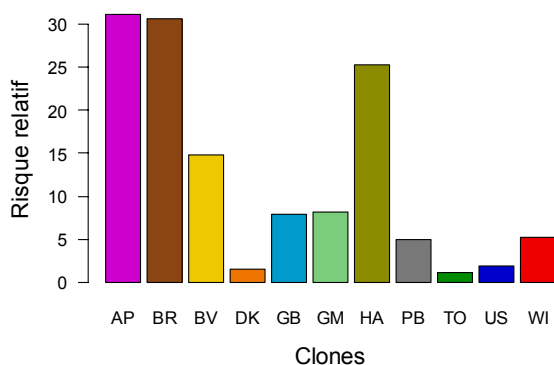


Figure 91 Risques relatifs de mortalité pour chacun des 11 clones en fonction du régime de nourrissage. Le risque relatif signifie, par exemple pour un collembole AP, que le risque de mourir est 31 fois plus grand lorsqu'il est en régime de nourrissage *ad libitum* qu'en restriction calorique.

Au sein de chaque régime de nourrissage le risque de mortalité change d'un clone à l'autre (nourriture rare : $\chi^2_{10}=103$, $P=0$; nourriture abondante : $\chi^2_{10}=49.7$, $P<0.0001$). Lorsque la nourriture est rare, ce sont les clones AP et BR qui ont la mortalité la plus faible et le clone US qui a la mortalité la plus forte (Figure 92). Ces différences de taux de mortalité entre clones sont très élevés : le risque de mortalité d'un collembole est 50.7 fois plus élevé chez US comparé à BR par exemple. Lorsque la nourriture est abondante, c'est, cette fois ci, le clone GB qui a la plus forte survie et le clone GM la plus faible (Figure 92) ; le risque de mortalité de ce dernier est 16 fois plus élevé que chez le premier (Figure 92).

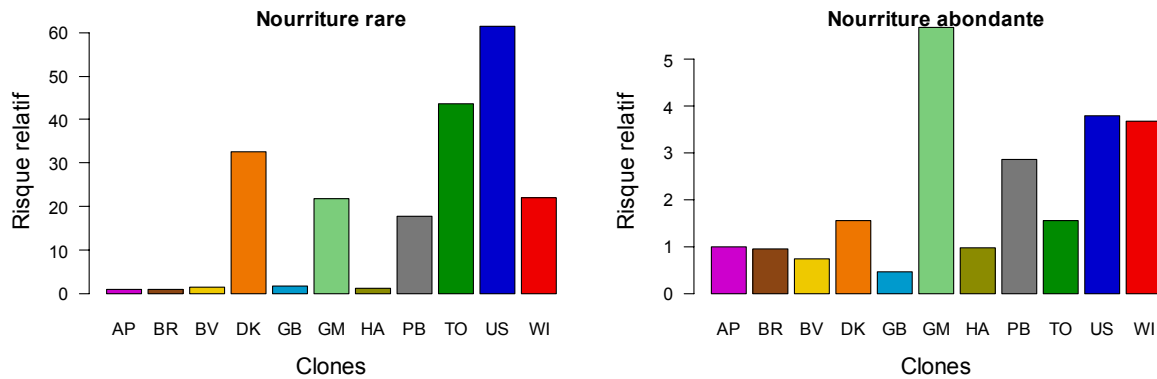


Figure 92 Risques relatifs (par rapport au clone AP) dans les deux environnements de nourriture.

D'autre part, on peut remarquer que les clones s'organisent en deux groupes distincts, groupes qui sont aussi mis en évidence en observant les durées médianes de vie (Figure 96) et qui correspondent d'ailleurs aux 2 groupes mis en évidence dans l'analyse phylogénétique. Les clones AP, BR, BV, HA et GB ont globalement une meilleure survie que les clones DK, GM, PB, TO, US et WI (Figure 92 et Figure 93). La différence de survie entre ces deux groupes est très marquée dans le régime alimentaire restrictif, car la plasticité de la survie du premier groupe est bien plus grande que chez les clones du second groupe (Figure 91).

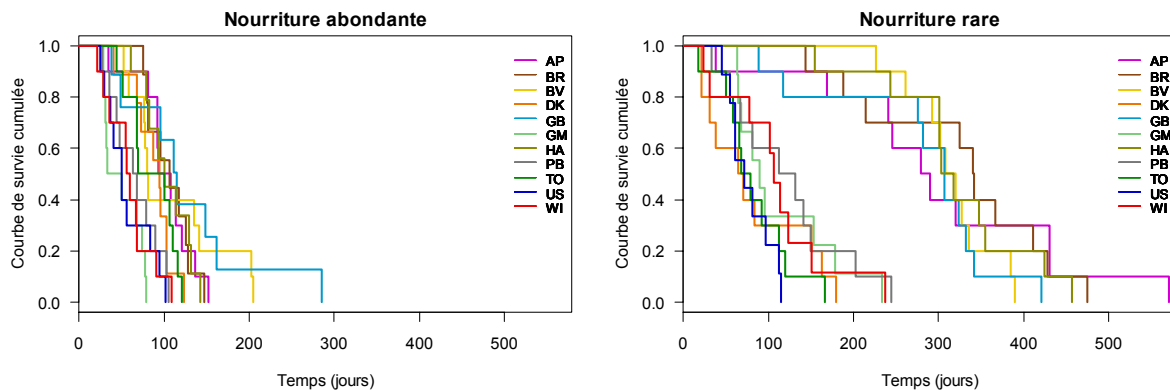


Figure 93 Courbes de survie pour les 11 clones dans les deux environnements.

Dans aucun des deux environnements, il n'y a de différence entre les profils de survie des clones du premier groupe (AP, BR, BV, HA et GB : $\chi^2_4=2.64$, $P>0.60$). Il en est de même dans le second groupe lorsque la nourriture est rare ($\chi^2_5=6.55$, $P=0.256$) mais ce n'est plus le cas lorsque la nourriture est abondante. On observe alors que la survie diffère globalement entre les clones de ce groupe ($\chi^2=15.2$, $P=0.0097$), ceci étant lié à la survie particulièrement faible de GM et à la relativement bonne survie de TO et DK (Figure 92).

C III 2) Estimation des héritabilités

Afin d'estimer la variabilité génétique de la longévité, le logarithme de la durée de vie (Figure 94) des individus morts de mort naturelle a été analysé au moyen d'un modèle linéaire mixte.

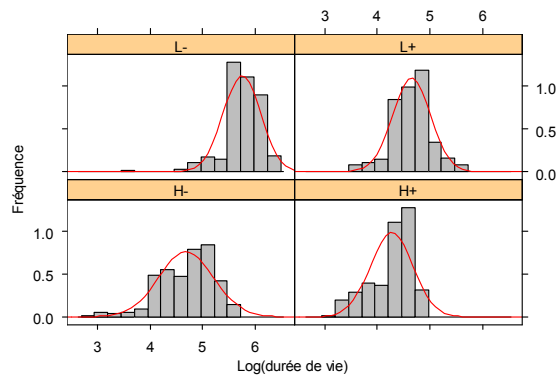


Figure 94 Distribution du logarithme de la longévité (jours) pour les deux groupes de clones ("L" = AP, BR, BV, GB et HA ; "H" = DK, GM, PB, TO, US et WI) et les deux environnements ("+" : nourriture abondante; "-" : nourriture rare).

La durée de vie est réduite lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=12.89$, $P=0.0003$). Un individu moyen d'un clone moyen vit 150 jours sous restriction calorique et 77 jours lorsque la nourriture est abondante. La variance intra-clone diffère entre clones et ceci différemment selon l'environnement ($\chi^2_{10}=21.7$, $P=0.016$, Figure 95).

La variance génétique de l'effet du régime de nourrissage sur la longévité est significative ($\chi^2_1=14.3$, $P=0.0002$) et l'héritabilité estimée de la plasticité est de 16.2%. On peut observer sur la Figure 97 que l'effet du traitement est très variable selon les clones. Alors que la durée de vie médiane est légèrement réduite pour le clone TO, elle augmente de plus de 200% pour les clones BR, BV et HA.

Il existe aussi une variance génétique sur la longévité aussi bien lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=16.1$, $P=0.0001$) que rare ($\chi^2_1=58.9$, $P<0.0001$). L'héritabilité de la longévité est plus grande lorsque la nourriture est rare ($h^2=58.6\%$) qu'abondante ($h^2=29.1\%$), ce qui se lit facilement sur la Figure 95 et la Figure 96.

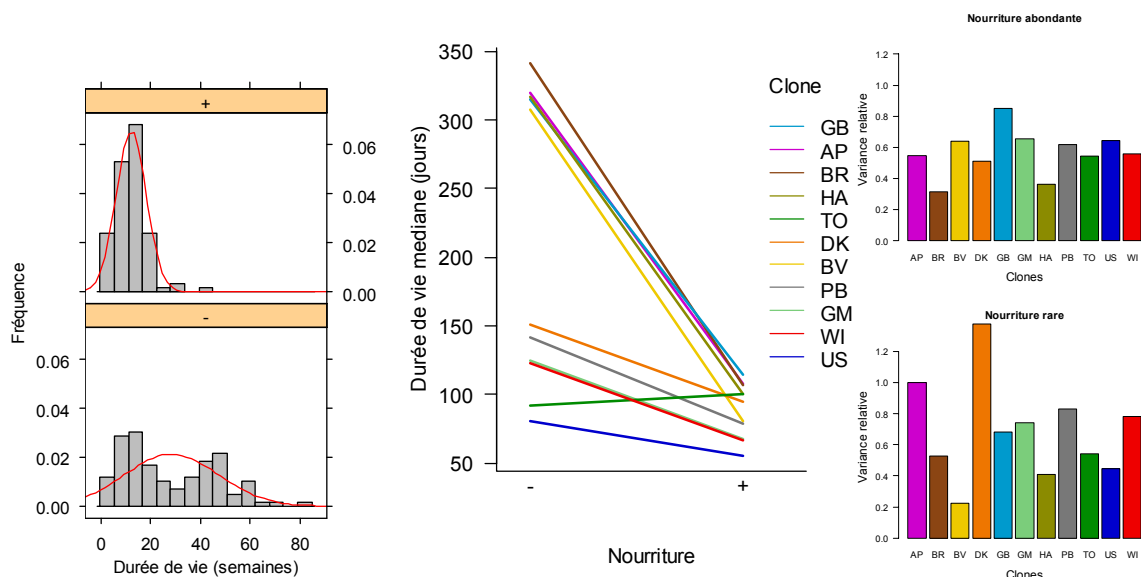


Figure 95 Histogramme (à gauche) des durées de vie observées sous les deux régimes de nourriture, et normes de réaction (au centre) de la longévité médiane pour les 11 clones dans les deux environnements. À droite, variance relative du logarithme de la longévité pour chacun des clones au sein des deux traitements.

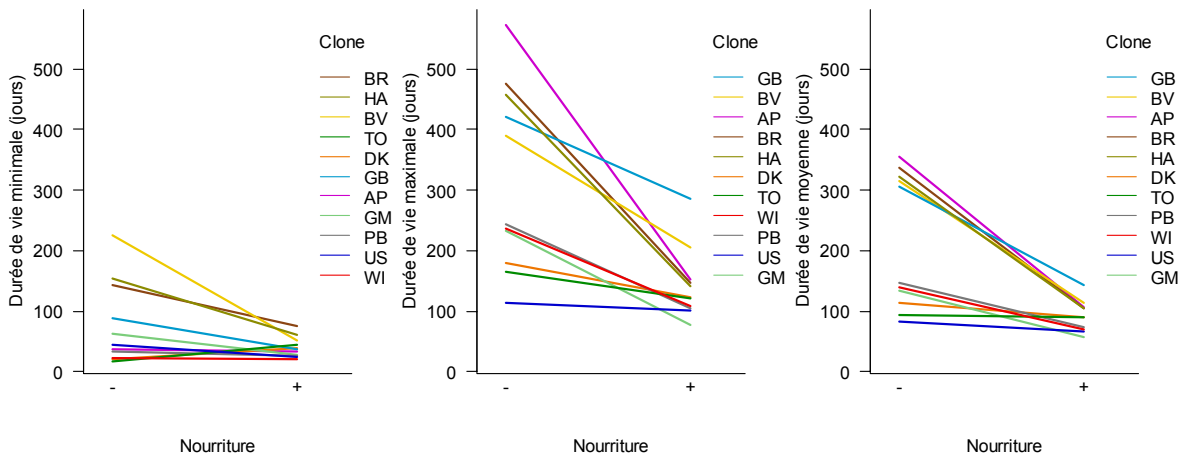


Figure 96 Longévités minimales, moyennes et maximales des 11 clones dans les deux environnements.

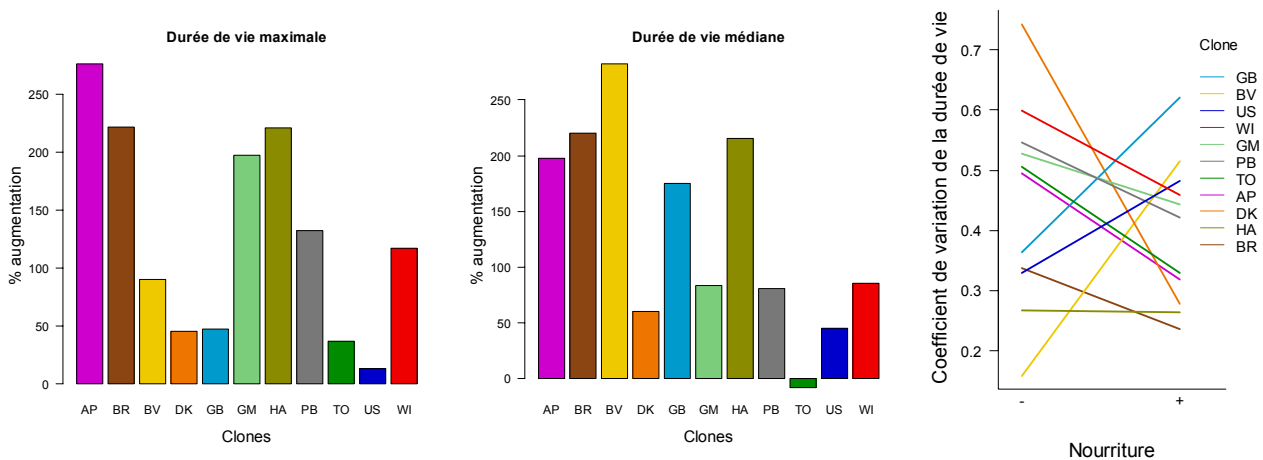


Figure 97 Pourcentages d'augmentation de la durée de vie maximale et médiane en régime de restriction calorique. À droite, coefficient de variation de la durée de vie pour chacun des clones dans les deux environnements.

C III 3) Modèles paramétriques

Malgré les différences persistantes entre clones au sein du groupe DK et cie lorsque la nourriture est abondante, nous avons procédé à une seconde analyse de survie dans laquelle nous n'avons considéré que les deux groupes de clones et les deux environnements. Le but de cette analyse - paramétrique cette fois-ci - est de préciser la forme de la fonction de risque sous-jacente au processus de mortalité étudié.

Afin de choisir un modèle paramétrique, nous avons commencé par observer la forme de la fonction de risque pour chacun des groupes. Sur la Figure 98 sont représentées quatre fonctions de risque. Pour chaque groupe, la durée de vie maximale au sein du groupe a été divisée en six intervalles et le taux de mortalité est mesuré sur chaque intervalle³¹. La figure montre que le taux de mortalité augmente avec l'âge pour tous les clones. Cette augmentation semble être de type exponentielle pour les clones à forte fécondité en présence de nourriture et relativement constante lorsque la nourriture est rare. Pour les clones à faible potentiel reproducteur, l'augmentation mène vers un plafonnement, suivi d'une diminution.

³¹ Les taux de mortalité ne sont donc pas comparables puisque les intervalles sur lesquels ils ont été calculés varient. La surface sous chaque courbe est constante.

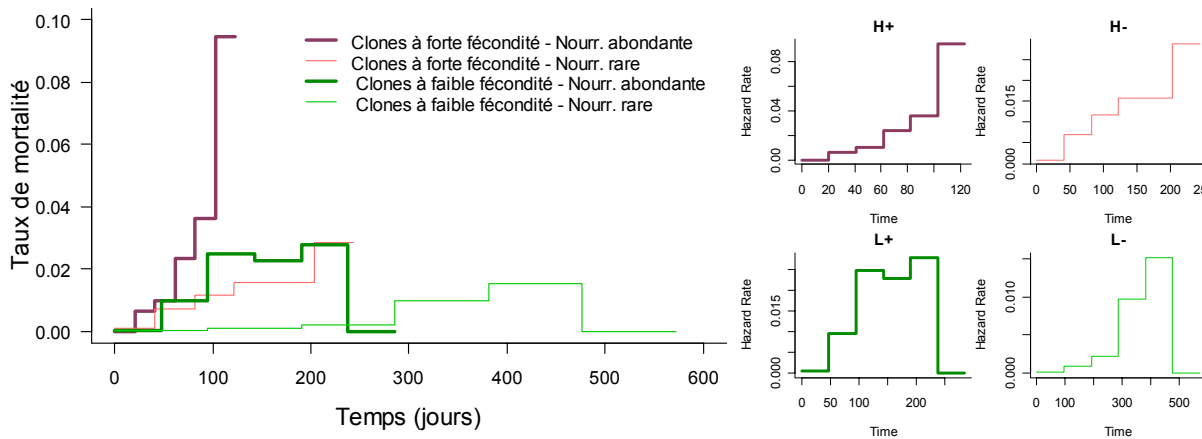


Figure 98 Fonction de risque pour chacun des quatre groupes. La durée correspondant à l'intervalle de temps sur lequel le risque de mortalité est calculé, est proportionnelle à la durée de vie maximale des collemboles au sein de chaque groupe. Les valeurs de la probabilité de mortalité ne peuvent donc pas être comparés directement entre groupes.

Afin d'étudier si ces différences en révèlent de plus profondes opérant au niveau des processus de vieillissement sous-jacents, nous avons pour chacun des groupes ajusté quatre modèles de survie paramétrique, un modèle loglogistique, un modèle lognormal, un modèle de valeur extrême et un modèle de Weibull. Les fonctions de survie de type loglogistique et lognormal sont basées sur une fonction de risque qui peut être nulle à l'origine, puis croissante, atteignant un maximum puis décroissante jusqu'à zéro (Fox 2001). Elles permettent donc de mettre en évidence l'existence d'un ralentissement dans l'augmentation de la mortalité avec l'âge, voire même une stabilisation ou un déclin du taux de mortalité pour les âges avancés. Le modèle extrême est proche de celui de Gompertz puisque le taux de mortalité croît de manière exponentielle avec l'âge. Le modèle de Weibull q permet aussi de modéliser une croissance monotone de la mortalité avec l'âge (cf. Chapitre 1C II 2), page 19).

L'ajustement de chacun de ces modèles conduit à l'estimation de deux paramètres. Le modèle s'ajustant le mieux aux données était défini comme ayant la plus grande vraisemblance (Tableau 16).

Tableau 16 Valeurs de vraisemblance (loglikelihood) associées à l'ajustement des quatre types de modèles sur les quatre groupes de collemboles.

Clones	Nourriture	N/censuré	Loglogistique	Lognormal	Valeur extrême	Weibull
AP, BR, BV, GB, HA	Rare	50/0	-307.51	-314.00	-304.36	-302.21
AP, BR, BV, GB, HA	Abondante	50/4	-236.26	-236.98	-255.36	-239.65
DK, GM, PB, TO, US, WI	Rare	60/3	-306.48	-306.25	-320.95	-305.05
DK, GM, PB, TO, US, WI	Abondante	60/1	-283.84	-281.67	-285.43	-279.64

Pour chacun des groupes, les différentes fonctions paramétriques de survie et de risque sont présentées dans la Figure 99. Pour chacun des groupes, le modèle de Weibull s'ajuste de manière satisfaisante aux données de tous les groupes. Le taux de mortalité augmente de manière continue avec l'âge mais pas de manière exponentielle. La vitesse d'augmentation du taux de mortalité avec l'âge ne semble que très peu accélérer avec le temps.

Pour les clones à fort potentiel reproducteur (groupe DK) le risque de mortalité commence à augmenter juste après la maturation. Le taux de mortalité augmente de manière globalement continue avec l'âge mais la vitesse d'augmentation est bien plus rapide lorsque la nourriture est abondante.

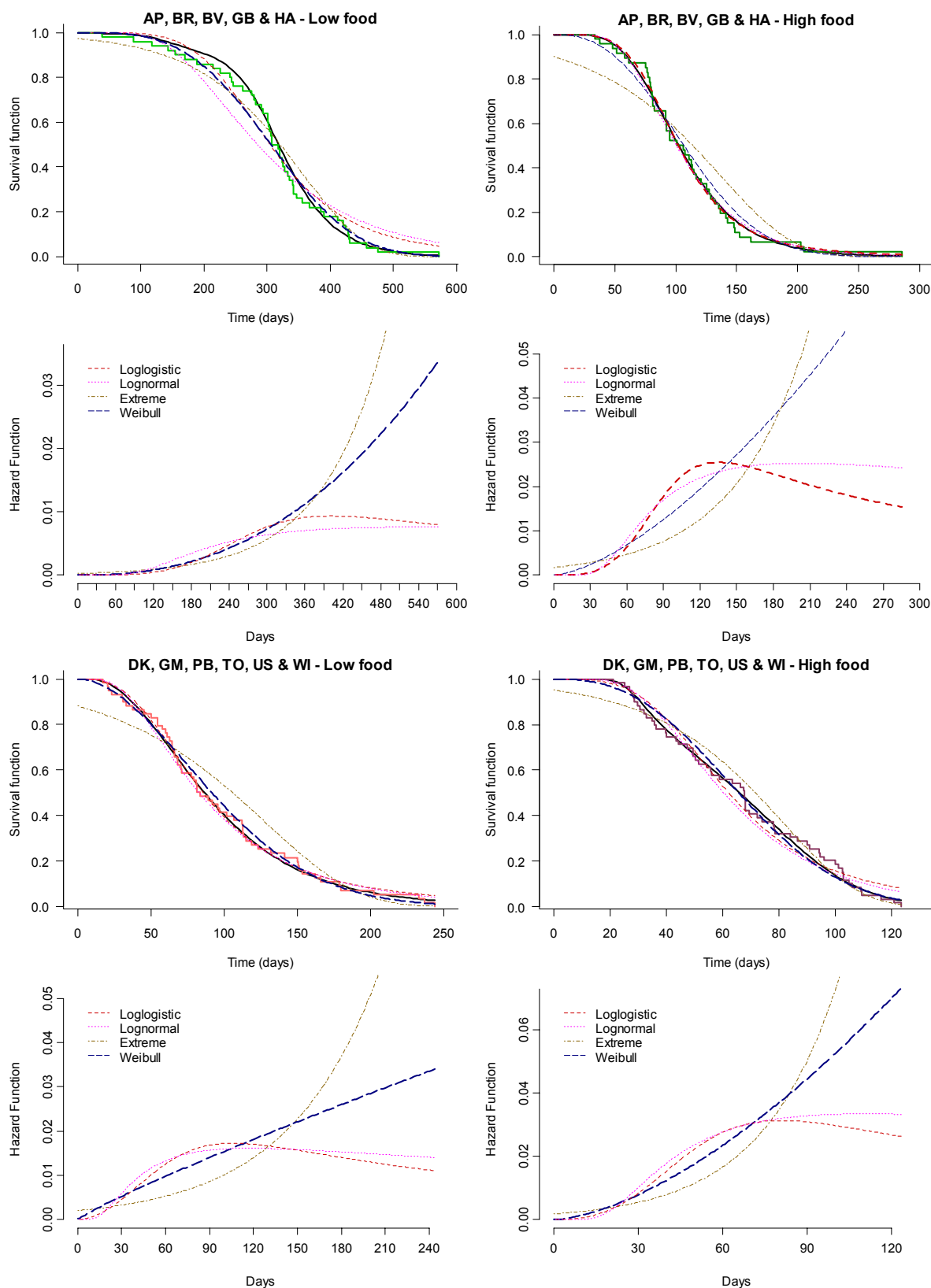


Figure 99 Pour chacune des combinaisons de deux groupes de clones et de deux environnements, les données de survie observées sont présentées (courbe en escalier, trait gras) ainsi que les courbes de survie ajustées des quatre types de modèles (traits discontinus), le modèle le plus vraisemblable étant représenté en trait gras. La courbe noire en trait fin provient de l'ajustement d'un modèle lissé (bibliothèque *smoothreg* de R). Pour chaque groupe d'individus, les fonctions de risque prédites par les quatre modèles paramétriques sont présentées dans le graphique sous chaque courbe de survie.

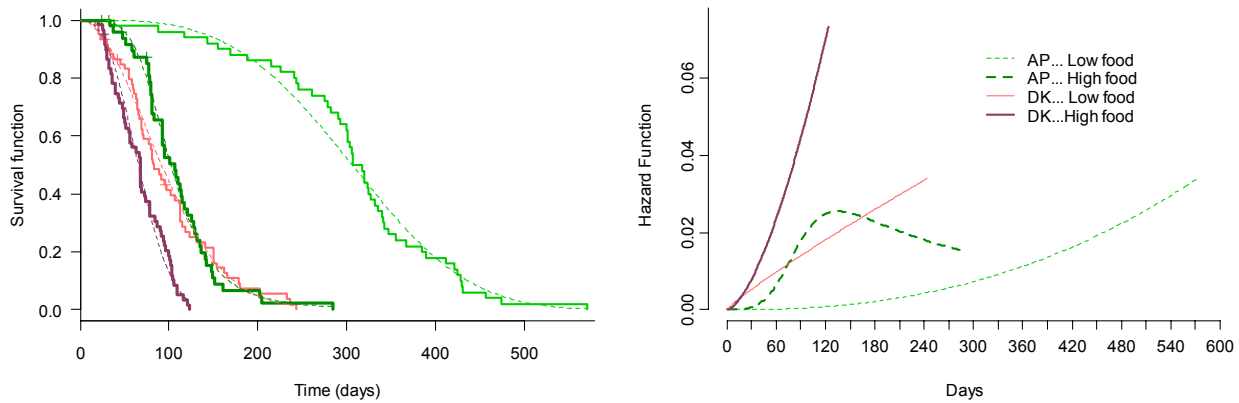


Figure 100 À gauche, courbes de survie des deux groupes de clones (AP, BR, BV, GB, HA en vert, et DK, GM, PB, TO, US et WI en violet) sous les deux régimes de nourriture (nourriture abondante : trait épais et couleur foncée; nourriture rare : trait fin et couleur claire). Pour chacun des quatre groupes d'individus, la fonction de survie prédite par l'ajustement d'un modèle paramétrique sélectionné figure en pointillé (modèles de Weibull et loglogistique). À droite, fonctions de risque correspondantes à chacun des modèles.

Pour le groupe de clones à faible potentiel reproducteur (AP et cie), la sénescence débute plus tardivement. Le taux de mortalité ne commence à augmenter qu'après 2 mois lorsque la nourriture est abondante, 6 à 8 mois lorsque la nourriture est rare. En conditions de faible nourrissage, la mortalité augmente lentement mais de manière continue. L'augmentation du taux de mortalité est beaucoup plus lente que pour les autres groupes d'individus. Lorsque la nourriture est abondante, l'augmentation de mortalité est brusque puis se stabilise et enfin décline (Figure 100). Ceci est mis en évidence par le fait que pour ce groupe d'individus, le modèle s'ajustant le mieux aux données est de type loglogistique (Tableau 16).

Il est remarquable qu'à cause de la brusque augmentation puis stabilisation et régression de la mortalité, la fonction de risque de ce groupe de d'individus croise deux fois celle des collemboles qui expriment un fort potentiel reproductif lorsque la nourriture est rare (Figure 100).

Le taux de mortalité ne dépasse jamais 4% par jour sauf pour les clones à fort potentiel reproducteur lorsque la nourriture est abondante. Il peut alors atteindre plus de 6% par jour (Figure 100).

C III 4) Durée de vie post reproduction

Après leur dernière ponte, la vie des collemboles peut se prolonger plus ou moins longtemps. Cette durée de vie post-reproductive est extrêmement variable, de 0 à 329 jours (cf. Figure 101).

C III 4 a) Régime de nourrissage

Cette durée dépend du régime de nourrissage ($\chi^2_1=8.03$, $P=0.0046$) : lorsque la nourriture est abondante, un collembole moyen vit en moyenne 25,6 jours après avoir pondu sa dernière ponte et 64,7 jours lorsque la nourriture est rare. La durée de vie post reproduction est moins variable entre individus au sein d'un clone lorsque la nourriture est abondante ($\chi^2_1=32.8$, $P<.0001$, variance-abondant=0.54 x variance-rare).

Si l'on rapporte la durée de vie post reproduction à la durée totale de vie, il apparaît qu'il n'y a alors plus qu'un très faible effet de l'environnement ($\chi^2_1=4.16$, $P=0.041$) : un collembole moyen passe en moyenne 26,0% (28,6% en restriction calorique et 24,0% avec nourriture abondante) de sa vie totale en fin de vie non reproductive.

C III 4 b) Effet génétique

L'effet moyen de l'environnement varie aussi en fonction des clones ($h^2=14\%$, $\chi^2_1=12.03$, $P=0.0005$). Sur la Figure 102, on peut noter que les clones GB, BV, HA et BR ont des durées de vie post-reproduction particulièrement élevées lorsque la nourriture est rare. Ce trait est héritable dans les deux

environnements : sous restriction alimentaire, l'héritabilité est de $h^2=55.42\%$ ($\chi^2_1=53.8$, $P<.0001$) et lorsque la nourriture abondante elle vaut $h^2=27.3\%$ ($\chi^2_1=13.3$, $P=0.0004$). En revanche, il n'y a pas d'interaction entre génotype et environnement pour le rapport de la durée de vie post reproduction à la durée totale de vie ($\chi^2_1=0.18$, $P=0.67$) mais ce trait reste héritable aussi bien sous régime restrictif ($h^2= 34.5$, $\chi^2_1=22.8$, $P<.0001$) qu'avec des ressources abondantes ($h^2=29.9$, $\chi^2_1=15.8$, $P=0.0004$, Figure 102).

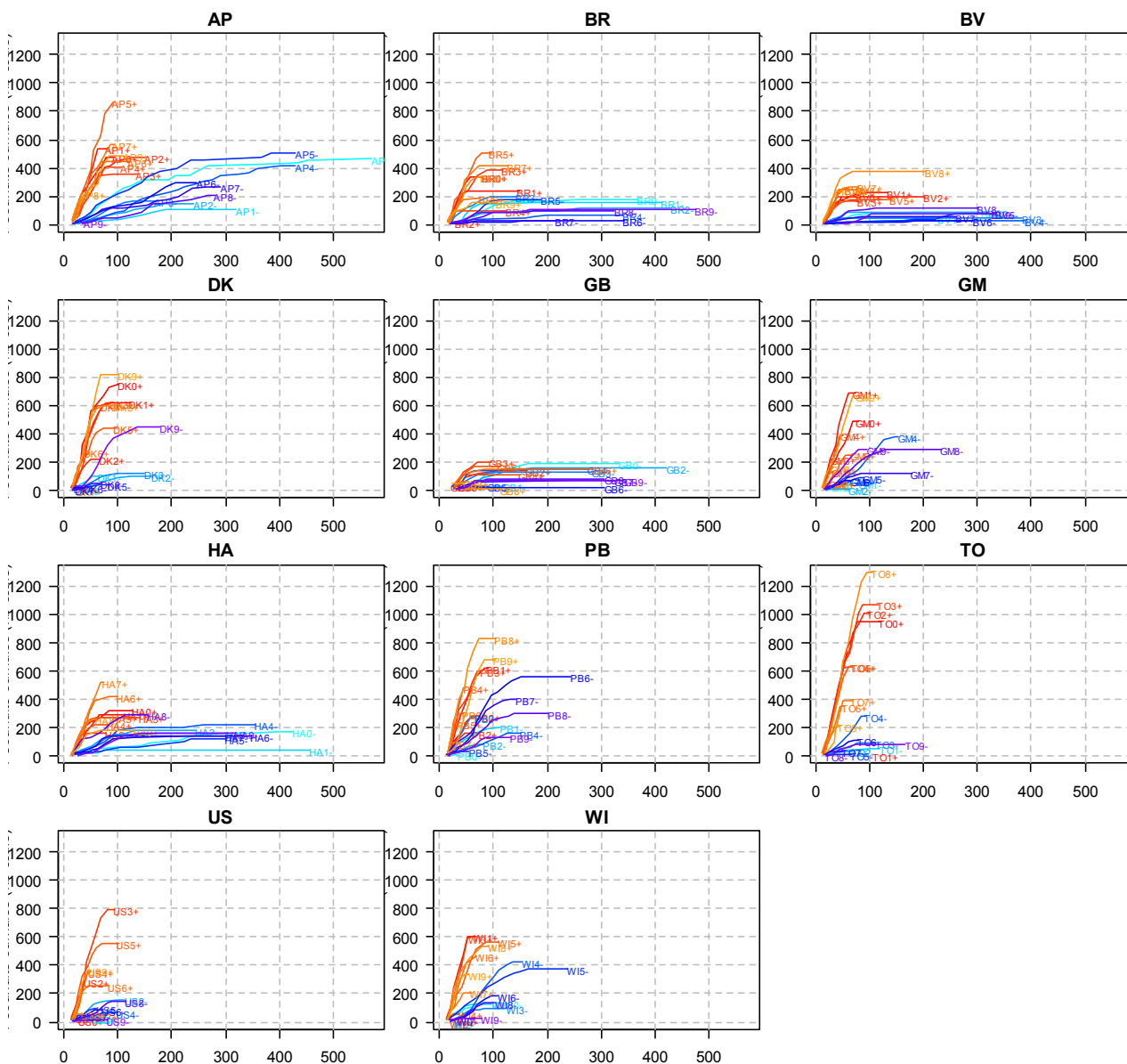


Figure 101 Courbes de fécondité cumulée (nombre d'œufs) en fonction de l'âge (jours) pour l'ensemble des individus des 11 clones sous les deux régimes de nourriture (bleu : nourriture rare ; rouge : nourriture abondante). Les plateaux en fin de vie matérialisent la vie post-reproductive.

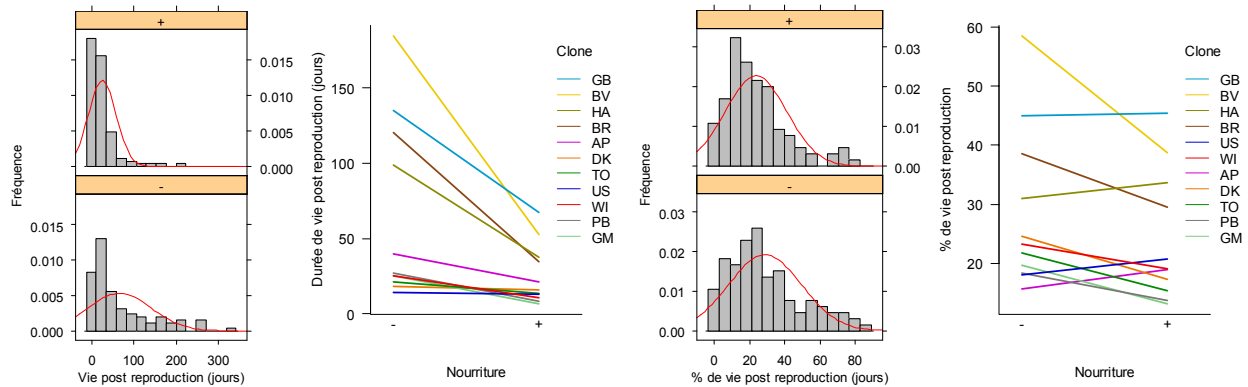


Figure 102 Durée de la vie post-reproductive et proportion de la vie passée en fin de vie non reproductive.

C IV Facteurs de risques extrinsèque : les paramètres de la réponse fonctionnelle varient-ils entre clones ?

Les résultats de l'expérience menée sur la prédation sont détaillés dans le manuscrit en Chapitre 7A V, page 222.

En résumé, si l'impact global de la prédation ne diffère pas entre les clones étudiés, nous avons pu néanmoins mettre en évidence l'existence d'effets génétiques sur certains paramètres de la réponse fonctionnelle.

C V Compromis entre survie et reproduction

C V 1) Reproduction précoce et longévité tardive

Globalement, au sein de chaque régime de nourrissage le risque de mortalité augmente avec l'investissement reproducteur précoce ($\chi^2_1=9.54$, $P=0.002$) ; l'effet de l'investissement reproducteur précoce sur la survie est similaire entre les deux régimes de nourriture ($\chi^2_1=3.46$, $P=0.063$). Cependant dès lors que le modèle inclut une fonction de risque différente pour chacun des groupes de clones dans les deux environnements, l'investissement reproducteur précoce n'a plus d'effet sur la survie à long terme ($\chi^2_1=0.71$, $P=0.398$). Ceci semble indiquer l'existence d'un trade-off globalement négatif entre effort reproducteur et survie sur l'ensemble de la diversité génétique observée mais pas au sein des groupes de clones. Ce trade-off proviendrait donc essentiellement des différences de survie et de reproduction observées entre les deux groupes de clones, et non de différences entre clones au sein d'un groupe ou entre individus au sein d'un clone.

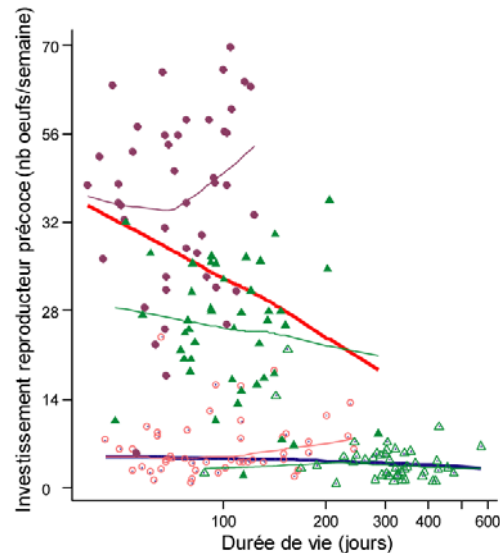


Figure 103 Graphe figurant la valeur observée de la longévité et reproduction précoce (avant 40 jours) mesurées pour l'ensemble des individus (morts de mort naturelle après 40 jours). Les cercles violets représentent les données des clones à fort potentiel reproducteur (DK, GM, PB, TO, US et WI) et les triangles verts, les clones à faible potentiel (AP, BR, BV, GB et HA). Les symboles vides représentent les données en régime de nourriture rare et les symboles pleins, en nourriture abondante. En traits fins, les courbes lissées ajustées pour chacun des quatre groupes d'individus ; en traits gras, les courbes lissées pour chacun des deux environnements (rouge : nourriture abondante ; bleu : nourriture rare).

C V 2) Stratégies de maturation et longévité tardive

Nous avons de même étudié la possibilité d'une influence de la précocité de la maturation sur la survie tardive, toujours au moyen d'un modèle de Cox. Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet de la fécondité à maturité sur la survie ($Z = -0.929$ $P = 0.35$). En revanche, globalement, au sein de chaque traitement, le risque de mortalité est d'autant plus élevé que la maturation est précoce ($Z = -3.35$, $P = 0.0008$, Figure 104). À nouveau cet effet est perdu dès lors que l'on prend en compte la structuration des individus par groupe de clone, ce qui indique que le compromis observé entre précocité de la maturation et survie tardive ne se manifeste en grande partie qu'à cause des différences existant entre les deux groupes de clones (Figure 104).

Enfin, nous avons pu montrer que dans les deux environnements et pour tous les clones la longévité est en partie déterminée par la taille adulte ($Z = -3.59$, $P = 0.0003$, Figure 104).

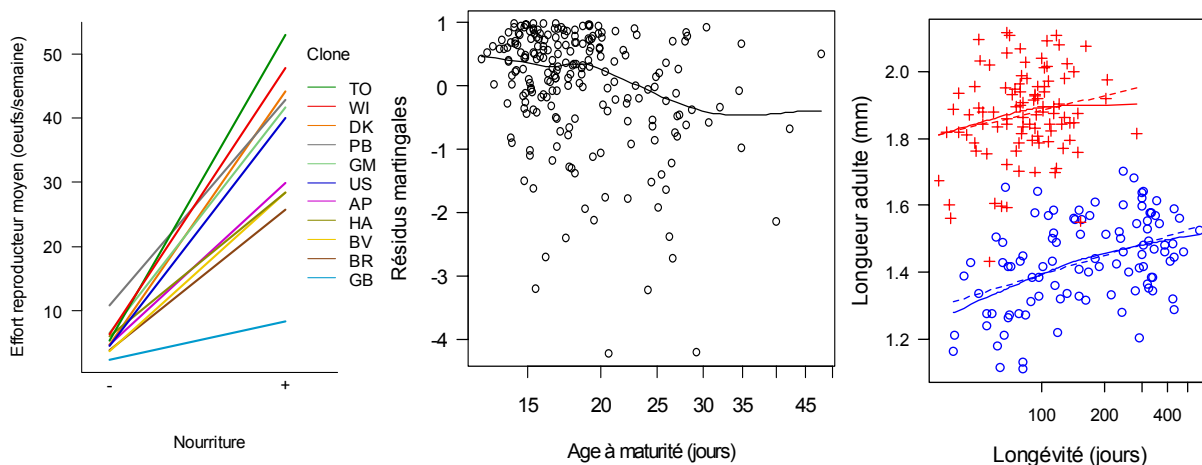


Figure 104 À gauche, valeurs moyennes de l'investissement reproducteur moyen précoce (avant 40 jours) par clone et par environnement. Au centre, illustration de l'effet de l'âge à maturité sur la survie (cf. légende de la Figure 57). À droite, relation entre longévité et taille adulte dans les deux environnements.

C V 3) Corrélations entre longévité et caractéristiques de la reproduction

Une décomposition des valeurs phénotypiques globales mesurées du succès reproductif total, de l'effort reproducteur moyen, de l'effort reproducteur précoce d'une part et de la longévité d'autre part, en leurs composantes génétique et non génétique (phénotypique intraclone) permet de mesurer dans les deux environnements les corrélations entre longévité et les différentes caractéristiques de la reproduction, aux différents niveaux de décomposition de la variance. Les corrélations génétiques ont été mesurées sur l'ensemble des clones et au sein de chacun des deux groupes de clones identifiés (Tableau 17).

○ Longévité et succès reproductif total

Au niveau phénotypique global, on observe une corrélation positive aussi bien lorsque la nourriture est rare ($P = 0.0016$) qu'abondante ($P = 0.047$). Au niveau phénotypique intra-clone, la corrélation est encore plus nette aussi bien lorsque la nourriture est rare ($P < 0.0001$) qu'abondante ($P < 0.0001$).

Pour ce qui est des corrélations génétiques globales, elle ne sont pas différentes de zéro ni lorsque la nourriture est rare ($P = 0.69$) ni lorsqu'elle est abondante ($P = 0.41$). En revanche, au sein de chaque groupe de clones, on peut observer pour les clones à fort potentiel reproducteur (DK et cie) une corrélation génétique positive sous les deux régimes de nourriture ($P < 0.02$). Dans l'autre groupe de clones (AP et cie), il existe une légère tendance vers une corrélation génétique négative lorsque la nourriture est abondante ($P=0.09$), mais pas de corrélation dans les conditions de restriction calorique ($P=0.99$) (Figure 106 et Tableau 17).

○ Longévité et effort reproducteur moyen

Le même type de calcul a été effectué ensuite sur l'effort reproducteur moyen calculé comme le succès reproductif total divisé par la durée de vie et exprimé en nombre d'œufs pondus en moyenne par semaine. Nous trouvons dans ce cas des corrélations phénotypiques globales négatives entre effort reproducteur et longévité aussi bien en restriction calorique ($P = 0.001$) qu'en régime *ad libitum* ($P=0.015$). Ces corrélations ne sont basées sur aucune corrélation phénotypique intra-clone ($P > 0.7$) mais sur l'existence de corrélations génétiques négatives entre les deux traits aussi bien en régime restrictif ($P = 0.01$) qu'*ad libitum* ($P=0.035$). Au sein de chaque groupe de clones, il n'est possible de mettre en évidence qu'une corrélation génétique positive pour le groupe DK et cie en restriction calorique ($P=0.016$) et une faible tendance vers une corrélation négative dans le groupe AP et cie lorsque la nourriture est abondante ($P=0.09$) (Figure 106 et Tableau 17).

○ Longévité et effort reproducteur précoce

Longévité et effort reproducteur ne semblent structurés au niveau phénotypique global dans aucun des deux régimes de nourriture, bien que l'on puisse noter une légère tendance vers une corrélation négative en restriction calorique ($P=0.09$). De même, les valeurs phénotypiques intra-clone ne sont pas corrélées ($P>0.30$).

Une corrélation génétique négative globale existe lorsque la nourriture est abondante ($P=0.005$) mais pas en restriction calorique ($P=0.19$). La corrélation génétique négative se retrouve au sein des clones AP et cie lorsque la nourriture est présente ($P=0.017$) mais pas dans l'autre groupe de clones ($P=0.19$). Lorsque la nourriture est rare, on retrouve sous la forme d'une tendance ($P=0.07$) la corrélation positive entre survie et reproduction pour les clones du groupe DK tandis qu'aucune structuration génétique n'apparaît dans l'autre groupe (Figure 106 et Tableau 17).

○ Potentiel reproducteur et potentiel de survie

En dernier lieu, nous avons mesuré la corrélation génétique entre le potentiel reproducteur des clones (c'est à dire la valeur génétique du succès reproductif de chaque clone lorsque la nourriture est abondante) et leur potentiel de survie (la valeur génétique de longévité lorsque la nourriture est rare). Ceci revient à rechercher l'existence de compromis génétiques croisés entre environnements, que l'on

détecte effectivement sous forme d'une corrélation génétique négative entre les deux traits ($P=0.007$, Figure 105 et Tableau 17).

Tableau 17 Valeurs (intervalles de confiance et niveau de signification) des corrélations phénotypiques globales, phénotypiques intra-clone et génétiques entre la longévité (LIFE longévité des individus morts naturellement), la fécondité totale (LRS, nombre d'œufs total pondus par chaque femelle au cours de sa vie) et l'effort reproducteur moyen (ER, nombre moyen d'œufs pondus par semaine au cours de la vie =LRS/LIFE). Enfin, la corrélation génétique entre le potentiel d'effort reproducteur (ER dans l'environnement à nourriture abondante) et le potentiel de survie (LIFE dans en restriction calorique) est indiquée (Figure 105). F : nourriture Faible; H : environnement à Haute nourriture; AP : la corrélation génétique n'est mesurée que chez les clones du groupe **AP, BR, BV, GB et HA; DK : la corrélation génétique n'est mesurée que chez les clones du groupe **DK, GM, PB, TO, US et WI**.**

Paramètres	Nour	Phénotypique					Phénotypique intra-clone					Génétique				
		Cor	IC 95%	t	ddl	P	Cor	IC 95%	t	ddl	P	Cor	IC 95%	t	ddl	P
LIFE-LRS	F	.30	.12;.47	3.23	103	.0016	.48	.32;.61	5.57	103	<.0001	.14	-.50;.67	.41	9	.69
	H	.19	.002;.37	2.00	101	.047	.42	.25;.57	4.7	101	<.0001	-.28	-.75;.38	-.86	9	.41
	F-AP											0.00	-.88;.88	.00	3	0.99
	F-DK											0.94	.55;.99	5.61	4	0.005
	H-AP											-.82	-.98;.21	-2.5	3	.087
	H-DK											.88	.25;.99	3.76	4	0.02
LIFE-ER	F	-.32	-.48;-.13	-3.4	103	.00095	.030	-.16;.22	0.30	103	.76	-.73	-.92;-.23	-3.2	9	0.01
	H	-2.4	-.41;-.049	-	101	0.0146	0.00	-.19;.19	0.00	101	.99	-.64	-.89;-.058	-	9	0.035
				2.48										2.47		
	F-AP											.08	-.86;.90	.14	3	.89
	F-DK											.89	.30;.99	4.0	4	.016
	H-AP											-.82	.99;.22	-2.5	3	.088
	H-DK											.71	-.24;.96	2.01	4	.11
LIFE-ERP	F	-.16	-.35;.02	-1.7	102	.088	-.10		-1.0	93	.30	-.43	-.82;.23	-1.4	9	.19
	H	-.03	-.22;-.15	-.36	102	.72	.07		.63	86	.53	-.78	-.94;-.34	-.37	9	.0047
	F-AP											.62	-.57;.97	1.38	3	.26
	F-DK											.77	-.10;.97	2.42	4	.07
	H-AP											-.94	-.99;-.35	-4.8	3	.017
	H-DK											.62	-.38;.95	1.58	4	.19
Max(LIFE-ER)												-.75	-.93;-.28	-3.5	9	.007

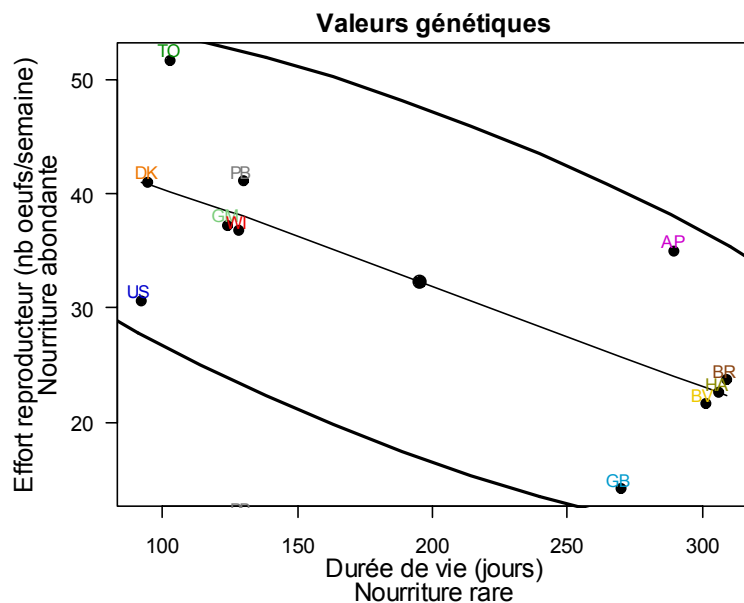


Figure 105 Corrélation génétique entre potentiel reproducteur et potentiel de survie. Ellipse à 90%.

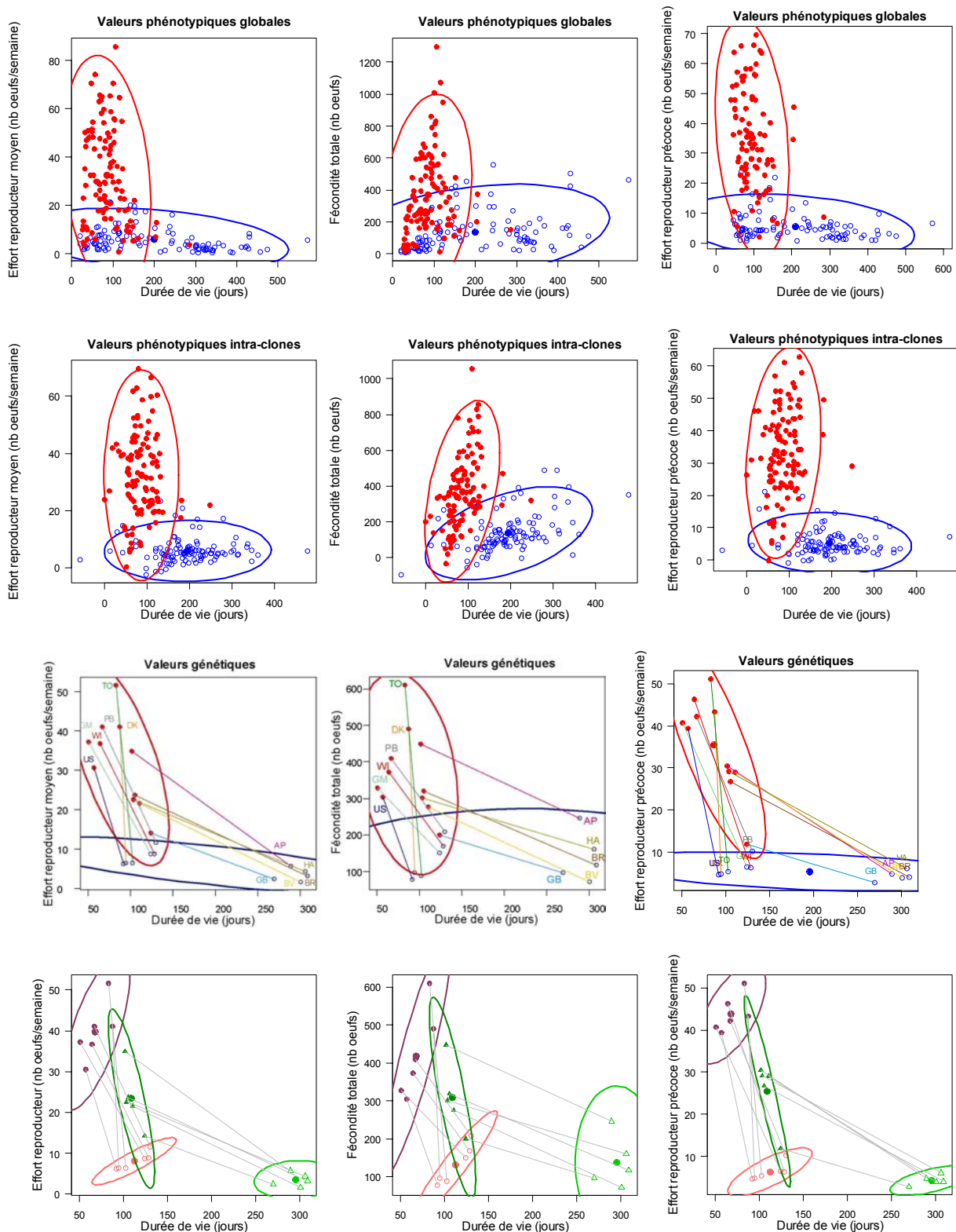


Figure 106 Corrélations phénotypiques globales (haut), phénotypiques intra-clone (milieu) et génétiques (bas) entre la longévité et (gauche) l'effort reproducteur moyen, (centre) le succès reproductif total, et (droite) l'effort reproducteur précoce. En bas, sont représentées les corrélations génétiques pour les deux groupes de clones (AP, BR, BV, GB, HA en vert et DK, GM, PB, TO, US et WI en violet) dans les deux environnements (cercles fermés : nourriture abondante; cercles ouverts : nourriture rare). Ellipses à 90%

D Discussion

Dans ce chapitre nous avons mené une étude intégrative de la survie adulte et de la reproduction. La structure des données nous a permis d'analyser finement les effets de l'âge et, par là même, la dynamique du vieillissement chez *Folsomia candida*.

D I 1) Reproduction

L'analyse des caractéristiques de la reproduction nous a permis de mettre en évidence de fortes différences génétiques à la fois sur la plasticité et sur la moyenne des traits.

○ Fécondité

Folsomia candida est une espèce itéropare. Lorsque la nourriture est abondante, les femelles pondent toutes les semaines environ. Elles répondent de manière plastique à un régime faible de nourriture en réduisant drastiquement la taille et la fréquence des pontes : les femelles pondent alors une ponte 3.5 fois plus petite toutes les deux semaines environ. Avant que les effets du vieillissement ne se manifestent, l'intervalle entre pontes est très régulier lorsque la nourriture est abondante et varie peu entre les clones si l'on met à part le clone GB. Ce dernier s'était déjà distingué par une maturité tardive et se caractérise ici par une fréquence de ponte plus faible. L'intervalle interponte plus grand de GB est à mettre en parallèle avec l'observation que nous avons faite d'un intervalle entre mues plus long pour ce clone (4.6 jours en moyenne contre 3.5 jours pour les autres clones, cf. Chapitre 4C II 3), page 96). Lorsque la nourriture est rare, l'intervalle entre pontes est beaucoup plus variable. Cette variabilité est sans doute liée au mode de distribution de la nourriture et à l'irrégularité de l'acquisition des ressources qui en résulte (cf. page 80) ; il faut en effet que la présence de nourriture dans la boîte coïncide avec une phase du cycle de mue au cours de laquelle le collembole est capable de se nourrir (cf. Figure 8, page 31).

Si la fécondité moyenne augmente pour tous les clones lorsque la nourriture est abondante, l'amplitude de cette augmentation varie entre les clones. En restriction calorique, la limitation des ressources disponibles affecte tous les clones de la même manière et aucun d'entre eux ne parvient réellement à se démarquer des autres en pondant des pontes plus nombreuses. En revanche lorsque la nourriture est abondante, deux groupes de clones se démarquent. On retrouve d'une part les clones DK et cie, qui ont une fécondité moyenne très élevée. Dans ce groupe, le clone TO se distingue encore par un très fort potentiel reproducteur. D'autres part, le groupe de clones AP et cie a un potentiel reproducteur plus réduit avec un clone GB remarquable par ses tailles de pontes très petites même lorsque les ressources sont abondantes. Ce patron permet d'observer une forte héritabilité pour la taille de ponte lorsque la nourriture est abondante, alors que l'héritabilité est nulle sous restriction calorique. Ainsi, dans notre système, les différences génétiques de potentiel reproducteur ne s'expriment que lorsque les ressources ne sont pas limitantes (Hoffmann & Merilä 1999).

Il est intéressant de remarquer que les deux groupes de clones ayant une forte plasticité de fécondité sont les mêmes que ceux trouvés lors de l'étude de la flexibilité de la reproduction : flexibilité et plasticité de ce trait semblent donc fortement liées.

○ Taille des œufs

Nous avons retrouvé comme au Chapitre 4 que la taille des œufs dépend de l'environnement, d'effets maternels et de facteurs génétiques. Les femelles de grande taille parviennent à pondre des œufs plus gros ce qui suggère l'existence de contraintes morphologiques. La taille des œufs varie selon le régime de nourriture : en restriction calorique, les œufs pondus sont plus petits. Ce résultat peut sembler en contradiction avec la flexibilité des tailles d'œufs observée au cours du Chapitre 4 où les femelles sous-alimentées et provenant de fortes densités pondaient des œufs plus gros. Cependant, dans la présente expérience, le régime de restriction calorique est sans doute moins stressant que le régime de forte densité dont provenaient les femelles du Chapitre 4. En effet, notre régime de restriction calorique n'a entraîné aucune mortalité avant la maturité et donc dans de telles conditions, produire des jeunes plus

gros n'améliore pas leur chance de survie. En revanche nous avons vu que produire de gros œufs permet une maturation plus précoce (cf. page 80). Or une maturité avancée est particulièrement avantageuse dans un contexte démographique de croissance exponentielle, induite par des ressources abondantes. L'augmentation de la taille des œufs avec les ressources pourrait donc être interprétée dans cette perspective adaptative.

Nous avons aussi retrouvé dans cette étude l'existence d'une différence manifeste dans la taille des œufs pondus par les deux groupes de clones : les clones à fort potentiel reproducteur arrivent aussi à produire des œufs de plus grande taille moyenne. On retrouve la corrélation génétique positive mise en évidence dans le Chapitre 4 entre taille des œufs et potentiel reproducteur (cf. Figure 63, page 102).

Ces deux groupes ne diffèrent pas que par la taille des œufs : alors que la quasi totalité des œufs produits par les clones à gros œufs se développent, la proportion d'œufs stériles des clones à petits œufs est plus forte. Il existe donc une relation positive entre la taille moyenne des œufs et leur fertilité. Lorsque la nourriture est abondante, la taille des œufs augmente mais la proportion d'œufs stériles aussi, ce qui signifie que la fertilité n'est pas une simple conséquence de la taille des œufs. Une réponse inverse a été observée chez *Daphnia magna* : la taille des œufs augmente et leur fertilité diminue lorsque la densité augmente (Baichorov 1992).

○ Investissement reproducteur

L'intégration en un paramètre unique de la taille de ponte et de celle des œufs, de l'intervalle entre pontes et de la taille de la femelle permet d'étudier assez finement les patrons d'investissement reproducteur relatif. Nous retrouvons évidemment l'augmentation très forte d'investissement lorsque la nourriture est abondante : un collembole moyen d'un clone moyen multiplie par 4.5 fois son investissement. Le contraste entre clones est d'ailleurs renforcé puisqu'en bonnes conditions les clones à fort potentiel reproducteur pondent plus souvent, plus d'œufs, et des œufs plus gros : l'héritabilité de la plasticité approche les 40% ; tandis que le clone GB ne modifie pas son investissement reproducteur, le clone TO le multiplie par 6.

○ Croissance, maturation et taille adulte

L'augmentation initiale de la reproduction avec l'âge est due, dans les deux environnements, à la croissance corporelle qui continue après la première ponte. À ce propos il est intéressant de remarquer que l'investissement reproducteur relatif de la première ponte est bien inférieur à celui des pontes suivantes. Ceci met en évidence la compétition qui existe probablement dans l'allocation des ressources entre croissance et reproduction : lors de la première ponte, la proportion de ressources allouées à la reproduction est réduite, le collembole continuant d'investir dans la croissance. La seconde ponte a généralement lieu lorsque la croissance est terminée et le collembole semble allouer toute l'énergie jusqu'alors dédiée à la croissance vers la reproduction : l'investissement reproducteur relatif devient très élevé.

L'analyse des trajectoires de croissance et de la maturation au cours du Chapitre 3 nous a permis de découvrir que le clone GB se singularisait par sa croissance post-reproduction très faible (~10%). Or ce clone n'augmente que très peu son investissement reproducteur relatif dans l'environnement à nourriture abondante ; environnement dans lequel il se distingue de tous les autres clones par une quasi absence de croissance post reproduction (Figure 47 et Figure 85) alors que les autres clones n'avaient effectué que 60 à 70% de leur croissance au moment de la maturation.

Ceci nous amène précisément à discuter des facteurs déterminant la taille adulte. Nous avons vu dans le Chapitre 3 que la taille adulte des collemboles est fortement affectée par la disponibilité en ressources : plus il y a de nourriture, plus les collemboles atteignent une grande taille adulte. Cependant la valeur adaptative d'un tel effet reste à explorer. Chez les gerris par exemple, la taille adulte ne semble être corrélée à aucune composante de la valeur sélective et a sans doute évolué comme une réponse corrélée à d'autres traits (Klingenberg & Spence 1997).

Dans notre étude, nous avons vu que la fécondité augmente avec la taille du collembole. Mais lorsque la nourriture est abondante, cette augmentation est plus importante : 3 fois plus d'œufs par mm pour un collembole moyen. On voit par-là même que l'avantage en terme de fécondité d'une grande taille adulte est plus élevé lorsque la nourriture est abondante. Ceci pourrait expliquer pourquoi la taille asymptotique moyenne atteinte par les collemboles est plus grande lorsque la nourriture est abondante. Il existe sans doute une relation entre la taille de la capsule somatique et la capacité d'acquisition des ressources et de transformation de celles-ci en œufs. Lorsque la nourriture est rare, cette capacité est compromise par le fait que ce n'est plus la taille de la machinerie qui limite la production d'œufs, mais la disponibilité des ressources tandis qu'un corps de grande taille reste sans doute plus coûteux à maintenir. Au vu de ces données, la plasticité de la taille adulte que nous avons observée semble bien adaptative et s'accorde à la prédiction d'une taille adulte optimale en fonction des conditions environnementales (Lynch 1977 ; Winkler & Wallin 1987). Il faut ajouter que la plasticité de la taille adulte résulte surtout de la plasticité de la proportion de croissance post-maturation. Cette plasticité semble adaptative car on trouve que cette proportion augmente dans l'environnement qui donne un avantage à une taille adulte plus grande. Les mécanismes à la base de la régulation de la taille adulte restent à déterminer (Davidowitz, D'Amico et al. 2003).

Enfin nous avons pu observer que les collemboles ayant une taille adulte plus grande survivent en général, au sein de chaque environnement, plus longtemps. Le même type de relation entre taille et survie a été observée chez la bruche du niébé (Fox, Bush et al. 2004).

○ Effets tardifs de l'âge

Nos résultats indiquent que le vieillissement affecte les collemboles sur plusieurs plans : leur comportement et l'état physiologique de leur capsule somatique tend à se détériorer avec l'âge.

Pour tous les traits relatifs à la reproduction, nous avons pu observer une détérioration avec l'âge. La fécondité, la fécondité relative, la fréquence des pontes, l'investissement reproducteur diminuent généralement après la quatrième, la cinquième ou la sixième ponte. Il est remarquable que des signes de sénescence apparaissent relativement tôt dans la vie d'un collembole. Les femelles ne semblent pas capables de maintenir un effort reproducteur élevé sur plus de quelques pontes consécutives alors que pour bon nombre d'entre elles, la reproduction se poursuit longtemps. L'effort reproducteur culmine relativement tôt dans la vie puis décline quel que soit l'environnement : la fécondité diminue, les pontes s'espacent dans le temps, l'investissement reproductif relatif chute.

Une sénescence de reproduction a été observée chez de nombreuses espèces (Moller & De Lope 1999). Analysant des données issues de zoo, Ricklefs remarque que la fertilité atteint un pic à un âge adulte assez jeune puis commence à décliner rapidement, en accord étroit avec nos observations (Ricklefs, Scheuerlein et al. 2003). Avant de décliner, la fécondité culmine donc sans plafonner. On peut cependant noter qu'il existe une variabilité génétique sur la hauteur du pic de fertilité, sa précocité, et la vitesse du déclin. Le clone GM est remarquable en ce qu'il fait exception : sa fécondité plafonne vraiment sans décliner avec l'âge. Ainsi, la sénescence de reproduction peut évoluer et la sélection naturelle semble pouvoir réduire, voire gommer complètement ses effets. Généralement, la sénescence de reproduction est d'autant plus appuyée que le pic de fécondité est tardif et marqué. Aux âges les plus élevés, l'intensité de la sénescence diminue : on observe chez certains clones un véritable plateau tardif de fécondité, plateau que l'on pourrait comparer au plateau tardif de mortalité décrit par Carey chez les mouches méditerranéennes (Carey, Liedo et al. 1992) et analysé en détail par Mueller et Rose (1996).

Le clone AP est quant à lui remarquable par sa sénescence de fécondité réduite et par son incroyable capacité à continuer à se reproduire à des âges extrêmement avancés. Ainsi, l'arrêt de la reproduction après un certain âge, qui s'exprime par une certaine durée de vie post-reproductive (fort longue notamment chez les clones à faible potentiel reproducteur en restriction calorique) n'est pas inéluctable. L'évolution semble avoir retardé l'âge de ce qui semble correspondre à une ménopause chez cette espèce. La ménopause réduite observée chez les clones à fort potentiel reproducteur est

d'interprétation délicate ; elle peut être induite par une mort rapide après la dernière ponte, sans que l'on puisse écarter la possibilité d'une poursuite de la reproduction s'ils avaient vécu plus longtemps.

Le vieillissement signifie que la valeur reproductive résiduelle d'un organisme diminue avec son âge. On pourrait s'attendre à ce que l'organisme réponde de manière plastique à cette réduction par une augmentation concomitante de son investissement reproducteur. Chez l'élan, par exemple, les femelles vieillissantes donnent naissance à des jeunes plus gros (Ericsson, Wallin et al. 2001). Il ne semble pas en être ainsi chez notre organisme modèle, puisque la taille des œufs est réduite pour les pontes les plus tardives. Une telle réduction de la taille des œufs avec l'âge des parents a été observée chez la bruche du haricot par exemple (Nikola, Darka et al. 2004). Chez notre collembole, une réduction de la taille des œufs en fin de vie maternelle n'est observable qu'en restriction calorique, qui permet d'atteindre des âges inaccessibles lorsque la nourriture est abondante. Il est donc possible que le régime de nourrissage ne soit pas directement en cause ; le phénomène serait simplement masqué lorsque la nourriture est abondante, la sénescence de survie étant alors plus rapide que la dégradation de cette composante de la reproduction. Cet aspect du vieillissement qui ne se manifeste donc que très tardivement suggère l'existence de fortes pressions de sélection pour soutenir la taille des œufs sur la majeure partie de la vie d'un individu.

D I 2) Survie

Les longévités maximales rapportées dans la littérature pour cette espèce sont variées: 198 jours à 21°C chez Snider (Snider 1973), la mort survenant environ 8 jours après la dernière reproduction ; 230 jours à 25°C chez Green (Green 1964) ; 111 jours à 24°C selon Marshall (Marshall & Kevan 1962) ; Plus de 400 jours selon Hutson (Hutson 1978). Le record est désormais détenu par la Jeanne Calment du Clone AP (AP0-), qui nous a quitté après 571 jours de bons et loyaux services rendus à la Science.

○ Déterminisme génétique de la longévité et de sa plasticité

L'effet de la restriction calorique sur la longévité avait déjà été observé dans ce groupe : la survie des *Folsomia* nourris de levure est réduite par rapport à celle d'individus nourris de fragments de feuilles de Sureau, nourriture bien plus pauvre (Vanamelsvoort & Usher 1989) ; la longévité de *Orchesella cincta* augmente lorsque les individus subissent des périodes de jeûne (Joosse & Testerink 1977). Notre étude a permis de retrouver ce type de réponse mais aussi de quantifier cette plasticité et d'en estimer la variance génétique.

Les observations de variations génétiques dans les taux de mortalité, entre populations au sein d'une espèce, sont rares (Pletcher & Curtsinger 2000 ; Fox, Bush et al. 2004), et l'héritabilité associée est généralement considérée comme faible (Curtsinger, Fukui et al. 1995). Dans notre système, nous avons pu mettre en évidence de forts effets génétiques sur la longévité et ce malgré la taille relativement réduite des cohortes suivies. La longévité est héritable sous les deux régimes de nourriture mais les différences entre clones sont plus marquées sous restriction calorique, l'héritabilité estimée atteignant alors presque 60%, contre 30% en condition de nourriture abondante. Ces mesures démontrent un fort potentiel évolutif de la longévité. Ces différences d'héritabilité résultent de variations marquées dans la plasticité de la longévité. L'héritabilité de la plasticité de la survie en réponse à la restriction calorique est encore très peu décrite dans la littérature (Allison, Miller et al. 2001). Quelques rares travaux menés notamment chez la souris mettent en évidence que l'effet de la restriction alimentaire varie selon les souches de souris utilisées (Forster, Morris et al. 2003 ; Rikke, Yerg et al. 2003). À notre connaissance aucune mesure de l'héritabilité de la plasticité de la longévité n'a été effectuée.

Deux groupes de clones se sont nettement dégagés au cours de notre étude quant à leur patrons de survie. Ces deux groupes correspondent aux deux unités phylogénétiques que nous avons mises en évidence précédemment (Figure 23, page 48). Globalement, les deux groupes répondent à une restriction calorique par une augmentation de la longévité médiane, moyenne, maximale et minimale. Pour le groupe de clones DK, l'ampleur de cette augmentation (~50%, Figure 97) est du même ordre

que les données classiques de la littérature. En revanche, pour le groupe AP, l'augmentation de longévité est énorme, environ 200%, voire plus de 250% pour le clone BV. À notre connaissance, aucune augmentation de cet ordre n'a jamais été observée. Ces données indiquent que les effets de la restriction calorique sur la survie sont sous contrôle génétique et signifient évidemment que la réponse à la restriction peut évoluer sous l'action de la sélection naturelle.

Il est probable que plusieurs types de gènes participent à la détermination de la longévité. On peut penser par exemple à des gènes intervenant dans le niveau de maintenance et de réparation du soma. Les mécanismes moléculaires sous-jacents pourraient impliquer un taux plus faible de dommages oxydatif des tissus lié à une réduction de la production de radicaux libres par les mitochondries. Cet effet résulterait quant à lui d'un potentiel transmembranaire de la membrane interne des mitochondries plus faible en restriction calorique (Sohal & Weindruch 1996).

Des gènes impliqués dans ce type de réponse et les voies de transduction du signal commencent à être identifiés, notamment chez la levure (Guarente & Kenyon 2000). D'autre part, chez le nématode, on a découvert des mutants de la flexibilité du rythme de développement, et donc de la longévité, en réponse à des variations de la température. Lors du transfert d'embryons sauvages d'une température à une autre, le rythme de développement s'ajuste rapidement à la nouvelle température. En revanche, les mutants *clk-1* font toute leur embryogenèse à un rythme correspondant à la température d'origine et non à la nouvelle température (Guarente & Kenyon 2000). Ainsi une simple mutation peut anéantir la flexibilité d'un trait lié à la durée de vie. Il serait intéressant de démontrer les mécanismes génétiques associés aux différents niveaux de plasticité de longévité que nous avons observés, forte chez le groupe AP, modérée chez GM, PB, US, WI, nulle chez TO et DK. Cependant, la concordance observée entre les types des plasticités mesurées et la topologie de l'arbre phylogénétique laisse plutôt supposer que les différences observées ne sont pas simplement dues à des mutations ponctuelles mais plutôt à des systèmes de régulations génétiques sans doute multigéniques. La discontinuité des effets observés, notamment en régime de restriction alimentaire, et la séparation de la variance génétique en deux groupes de clones très distincts, suggère toutefois qu'un nombre réduit de gènes puisse avoir des effets très prononcés sur la plasticité et la moyenne de la longévité. De tels gènes ou mutations ont été mis en évidence chez le nématode (Friedman DB 1988) et la drosophile, par exemple (Finch & Tanzi 1997 ; Yang & Wilson 2000 ; Cournil & B.L. Kirkwood 2001 ; Aigaki, Seong et al. 2002).

○ Dynamique de la mortalité

Contrairement aux observations classiques réalisées dans de nombreux taxa, l'augmentation du taux de mortalité avec l'âge, présente dans tous nos groupes de collemboles, n'est pas exponentielle mais de type Weibull. L'ajustement de modèles paramétriques a permis de mettre en évidence l'existence de différentes formes de fonction de risque entre unités génétiques et entre environnements. Les clones à fort potentiel reproducteur souffrent d'une sénescence accélérée dans les deux environnements et d'une plasticité de survie réduite. D'autre part, pour le groupe de clones supervieillissants lorsque nourris *ad libitum*, le modèle paramétrique met en évidence l'existence d'un plateau de mortalité aux âges avancés. Ainsi avons-nous pu mettre en évidence des différences génétiques et environnementales non seulement sur les taux de mortalité mais aussi sur la forme de la fonction de survie, ce qui avait encore rarement été fait (Tatar & Carey 1994 ; Curtsinger, Fukui et al. 1995).

On explique classiquement la diminution du taux de mortalité avec l'âge par le fait qu'à mesure que les individus vieillissent, l'ensemble des survivants représente un sous-échantillon non aléatoire de la cohorte d'origine. Si cette cohorte n'est pas homogène génétiquement, il est probable que la mortalité sélectionne des individus dont les caractéristiques génétiques leur confère une longévité accrue. Nous avons observé un ralentissement de la mortalité chez les individus les plus âgés au sein d'un groupe de clones. Il reste à déterminer si ce ralentissement est dû à des différences génétiques entre clones, ou au fait que différents individus d'un même génotype peuvent avoir des longévités différentes même s'ils subissent les mêmes conditions environnementales. Quant à l'absence de plateau dans les autres

groupes de clones, on ne peut pas exclure qu'elle émane de la faible puissance statistique de nos tests (Mueller & Rose 1996). Le suivi de cohortes plus fournies serait à cet égard souhaitable.

Les différences de forme de fonctions de survie sont aussi révélées par l'étude des variations de la longévité médiane, minimale et maximale en fonction des traitements, ce qui est par ailleurs lié à la variance de longévité. Nous avons pu observer pour un même environnement et au sein d'un génotype donné une grande variation sur la longévité des individus, et nous avons décelé des différences génétiques sur cette variation. Alors que pour certains clones la distribution des longévités s'étale en conditions de restriction calorique, elle se resserre pour d'autres. Les mécanismes génétiques codant pour cette variance restent largement inconnus. Cependant, chez la souris, des gènes impliqués dans l'expression de ce trait ont pu être identifiés (de Haan, Gelman et al. 1998). La signification adaptative, s'il y en a une, de telles différences génétiques sur la variance de la longévité et la plasticité de cette variance reste à préciser.

Dans le cadre de la théorie classique de l'allocation et des compromis, il semblerait paradoxal que, lorsque la quantité de nourriture disponible augmente, l'investissement dans un des postes d'allocation puisse diminuer. Or c'est bien ce que l'on observe pour la survie. Lorsque la nourriture est abondante, on s'attend à ce que les collemboles investissent plus de ressources à la fois dans la reproduction et dans la survie. Pourquoi aucune souche de collemboule ne parvient-elle à augmenter sa survie ? Ce paradoxe fragilise toute la théorie du soma jetable, ainsi que l'a noté Mitteldorf (Mitteldorf 2001). Nous proposons cependant deux réponses :

- Lorsque la nourriture est rare, la reproduction est fortement contrainte, et la survie des juvéniles est réduite (Figure 56) ; de plus, une telle réduction de la quantité de ressources disponibles par collemboule pourrait, dans la nature, accompagner la stabilisation d'une population par densité-dépendance autour de sa capacité portante. La croissance de la population serait alors virtuellement nulle. Au contraire, lorsque la nourriture est abondante, la fécondité est élevée et la survie des jeunes, maximale ; de telles conditions ne se réalisent que si la densité est faible. La croissance de la population est alors rapide, réduisant de fait la valeur reproductive future de la mère (Caswell 2000). Dès lors, on prédit qu'une stratégie d'allocation des ressources qui investirait massivement dans la reproduction actuelle, quel que soit le coût pour la survie, soit sélectionnée. La quantité de ressources jouerait alors le rôle d'un signal de l'état démographique de la population, renseignant l'individu sur sa valeur reproductive future. Notons que la généralité de cette hypothèse n'est pas corroborée par le clone GB, capable de réduire fortement sa survie individuelle en présence de nourriture sans toutefois augmenter significativement son investissement dans la reproduction.
- Une explication alternative (mais non exclusive) suppose que la relation négative observée entre reproduction et survie ne passe pas (seulement) par un pool de ressources communes. Les deux traits pourraient s'influencer directement, ou par le biais d'autres facteurs (génétiques ?).

○ **Survie et fertilité**

Le groupe de clones ayant la survie et la plasticité pour la longévité la plus élevée produit en parallèle des pontes dont la proportion d'œufs stériles est plus grande (Figure 83). Cette observation peut être rapprochée des résultats des travaux de Silberman et Tatar (2000). Ces auteurs ont produit des drosophiles transgéniques possédant des copies supplémentaires du gène de la protéine chaperonne HSP70. Ces copies supplémentaires permettent d'augmenter la longévité des drosophiles mais en contre partie, la viabilité des œufs qu'elles produisent est réduite. On est tenté de faire l'hypothèse qu'un mécanisme similaire existe de manière naturelle chez les collemboles. Il serait donc intéressant de comparer les niveaux d'expression des protéines chaperonnes entre les deux groupes de clones.

○ **Sénescence et mortalité extrinsèque**

Des différences de patrons de sénescence pourraient s'expliquer par des variations du niveau de mortalité extrinsèque (Abrams 1993 ; Stearns, Ackermann et al. 2000). Cependant, l'expérience sur la prédation ne nous permet pas de lier les différences de survie observées entre groupes de clones à une variabilité génétique de la sensibilité à ce facteur de mortalité extrinsèque.

○ **Survie et reproduction**

L'existence d'un compromis entre survie et reproduction a été étudiée à plusieurs niveaux.

Une maturation précoce peut réduire le taux de survie tardif. Ceci a été observé par exemple chez la mésange charbonnière (McCleery, Clobert et al. 1996). Chez les collemboles, une maturation précoce s'accompagne d'une augmentation du risque de mortalité ; cet effet n'est cependant dû qu'aux différences entre les deux groupes de clones et non à des effets physiologiques non génétiques. Ainsi des facteurs génétiques sous-tendent ce lien entre précocité de la maturation et longévité. De tels facteurs ont aussi été mis en évidence chez la souris où l'on connaît une lignée caractérisée par un âge à maturité tardif et une longévité accrue (Biddle, Eden et al. 1997).

Le succès reproductif total augmente avec la longévité, l'augmentation étant plus forte lorsque la nourriture est rare. Cette relation n'est due qu'à la corrélation phénotypique intra-clone sous-jacente : au sein de chaque clone et dans chaque environnement, les individus qui vivent plus longtemps parviennent à tirer profit de cette survie prolongée en pondant un plus grand nombre d'œufs. À cause de la différence d'investissement reproducteur entre les deux environnements, l'avantage d'une augmentation de longévité en terme de reproduction est bien supérieur lorsque la nourriture est abondante.

En absence de corrélation génétique globale entre succès reproductif total et longévité, cette variation ne peut donner prise à la sélection. Cependant, lorsqu'on étudie les corrélations génétiques au sein de chaque groupe, on observe une forte corrélation génétique positive entre succès reproductif total et survie dans le groupe de clones DK. Des corrélations génétiques positives semblent contredire la notion de compromis entre traits (Reznick, Nunney et al. 2000) : dans un tel système, l'évolution vers une longévité accrue est possible puisque les clones ayant à la fois une meilleure survie et un plus grand succès reproductif devraient être rapidement sélectionnés. Comment dès lors expliquer la persistance dans la nature de clones cumulant faible survie et faible succès reproductif ? Il faut pour cela remarquer qu'entre les deux environnements l'ordre des clones est modifié : lorsque la nourriture est abondante, les clones TO et DK par exemple sont fortement avantagés car il ont à la fois une fécondité totale et une longévité élevée. Cependant ces "super collemboles" perdent leur suprématie en restriction calorique car contrairement aux autres clones de leur groupe, leur plasticité en survie est nulle, tandis que leur succès reproductif s'effondre. D'autres clones tels que PB, WI et GM devraient alors être favorisés. Les corrélations génétiques positives entre traits ont déjà été observées par exemple entre différentes espèces de daphnies (Spitze 1991 ; Spitze, Burnson et al. 1991) où un taux de croissance élevé était corrélé à une forte fécondité. Les "super collemboles", comme les "super daphnies" ne sont supérieurs que dans un type d'environnement particulier (Reznick, Nunney et al. 2000). Les croisements de normes de réaction bivariées que nous avons observés sont liés au fait que la plasticité d'un trait semble négativement liée à la plasticité de l'autre trait. Les clones qui se détachent par leur extrême plasticité de reproduction, TO et DK, se distinguent par la plasticité inexistante de leur longévité. Les clones qui ont une forte plasticité de reproduction ont une plasticité modérée pour la survie (GM, PB, US, WI) tandis que ceux qui se remarquent par une plasticité très réduite pour la reproduction (BR, BR, HA et GB) font preuve d'une très grande plasticité de survie. Un compromis entre plasticité d'un trait et valeur moyenne de l'autre a été décrit entre espèces par Tessier et al. (Tessier, Leibold et al. 2000) chez des daphnies (plasticité de la croissance et taille adulte). Chez la bruche du niébé, le compromis entre longévité et fécondité ne s'observe qu'entre environnements, les corrélations phénotypiques et génétiques étant positives au sein de chaque environnement (Messina & Slade 1999).

Considérant la relation entre longévité et effort reproducteur moyen, nous avons pu observer dans les deux environnements une corrélation phénotypique globale négative. Ces deux corrélations sont dues à deux corrélations génétiques négatives sous-jacentes. Il n'y a en revanche pas de corrélation phénotypique intraclone bien qu'il existe une forte variance interindividuelle d'effort reproducteur au sein de chaque environnement. Mais manifestement cette variance, à génotype constant, n'affecte pas directement la longévité du collembole, ce qui va à l'encontre des prédictions de la théorie du soma jetable. Il est possible cependant que cette absence de corrélation soit due à une absence de variabilité individuelle dans l'ajustement entre effort reproducteur et maintenance, et que les différences observées d'effort reproducteur résultent de différences interindividuelles dans les capacités d'acquisition de ressources liées à la taille par exemple. Dans ce cas il serait plus correct de rebaptiser ce que nous avons appelé "effort reproducteur" par "taux d'investissement reproducteur" par exemple (pour une discussion sur la notion d'effort reproducteur cf. Chapitre 4B II 2 a) page 93). L'absence apparente de coûts physiologiques de la reproduction s'observe de même entre effort reproducteur précoce et longévité (pas de corrélation physiologique intra-clone).

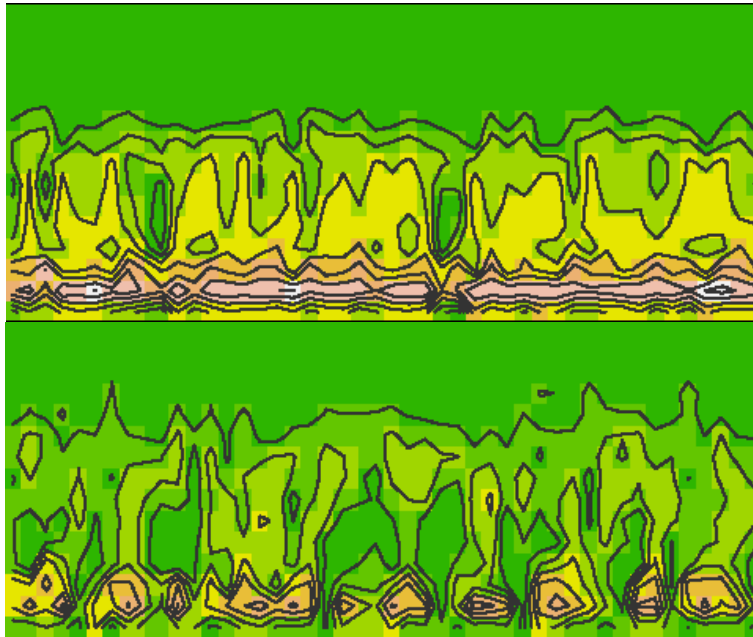
La présence d'une corrélation génétique négative, dans les deux environnements, entre effort reproducteur moyen et longévité montre qu'il existe bien en revanche un compromis génétique entre ces deux traits. Cette corrélation génétique négative ne se retrouve en revanche pas au sein des deux groupes de collemboles ; il existe même une corrélation génétique positive entre survie et effort reproducteur au sein du groupe DK en situation de restriction calorique : les clones qui parviennent à produire des œufs au rythme le plus soutenu sont aussi ceux qui vivent le plus longtemps et ceci dans l'environnement où les ressources sont rares. Cette observation est très étonnante puisqu'elle est difficilement conciliable avec l'interprétation classique basée sur des différences de capacité d'acquisition de ressources entre génotypes, différences qui ne sont généralement suivies d'effet que lorsque ces ressources sont effectivement disponibles en grande quantité (van Noordwijk & de Jong 1986).

Comme nous avons pu le vérifier, il existe entre les deux groupes de clones un compromis génétique entre le potentiel de reproduction (qui s'exprime lorsque la nourriture est abondante) et le potentiel de survie (qui se mesure en situation de restriction calorique). Les clones du groupe DK payent en capacité à survivre lorsque la nourriture est rare leur potentiel de reproduction élevé, même si celui-ci ne s'exprime pas dans les conditions alimentaires restrictives. De même les clones du groupe à faible reproduction payent, lorsque les ressources sont abondantes, un coût en fécondité pour leur fort potentiel de survie en cas de restriction calorique.

En conclusion, l'absence systématique de compromis physiologique entre longévité et reproduction s'inscrit en faux contre la théorie du soma jetable. Mais l'existence, dans les deux environnements, de compromis génétiques entre longévité et effort reproducteur, accorde un rôle potentiel à la pléiotropie antagoniste. Les effets pléiotropiques ne semblent jouer cependant qu'à une échelle évolutive macroscopique sur lesquelles s'inscrivent les différences génétiques les deux groupes monophylétiques de clones. À une échelle évolutive plus fine, c'est à dire au sein de chaque groupe de clones, les corrélations génétiques peuvent être perdues ou même s'inverser. La sélection peut ainsi casser des interactions génétiques négatives comme cela a pu être montré, chez la drosophile, dans le cas du compromis entre fécondité précoce et survie tardive (Leroi, Chen et al. 1994 ; Leroi, Chippindale et al. 1994) ou entre longévité et résistance au stress (Phelan, Archer et al. 2003).

La matrice de variance-covariance entre traits peut donc elle-même évoluer (Rice 2002). Les dynamiques adaptatives que l'on peut inférer d'une matrice fixée ne sont donc pas valables à l'échelle macroévolutive.

Chapitre 6 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES



L'objectif général du travail présenté était de comprendre l'origine de la variation des valeurs des traits d'histoire de vie chez le collembole parthénogénétique *Folsomia candida* à différentes échelles : chez un individu au cours de sa vie, entre individus issus d'un même génotype, et entre génotypes différents. Cette variation fut étudiée systématiquement dans deux environnements simulant deux conditions démographiques contrastées ; pour cela nous avons manipulé la disponibilité des ressources alimentaires en contrastant un environnement de nourriture *ad libitum* avec un environnement de restriction calorique. L'ensemble des résultats obtenus nous permet de jeter un éclairage nouveau sur quelques questions clés de la théorie des traits d'histoire de vie.

A L'héritabilité des traits d'histoire de vie

○ Les traits d'histoire de vie sont-ils héréditaires ?

Bien que fortement soumis à la pression de la sélection naturelle, nous avons pu détecter, pour la majorité des traits d'histoire de vie, une variabilité génétique dans leur détermination. L'héritabilité estimée de ces traits est de l'ordre de 15 à 30% mais peut atteindre plus de 40% pour certains (taille des pontes des jeunes collemboles adulte lorsque la nourriture est abondante). Ainsi, il existe, chez cette espèce, une grande diversité de stratégies démographiques.

○ Quelle est l'influence des conditions environnementales sur l'héritabilité des traits d'histoire de vie ?

Pour certains traits, l'héritabilité demeure stable dans les deux environnements étudiés. C'est le cas par exemple pour la variance génétique de la taille des œufs. Pour d'autres, l'héritabilité est plus forte lorsque les ressources sont abondantes. C'est le cas pour les traits qui sont *a priori* gourmands en ressources énergétiques : fécondité, effort reproducteur, trajectoire de croissance. Pour ce qui est de la reproduction, les différences génétiques entre clones ne peuvent s'exprimer que lorsque les ressources ne sont pas limitantes. Sous un régime de restriction calorique, le manque de ressources semble limiter de manière équivalente l'expression de ces traits pour tous les génotypes. En ce qui concerne la croissance, la différence d'héritabilité observée entre environnements est due à une réduction de la variance non génétique lorsque les ressources abondent. Enfin, c'est en conditions de restriction calorique que l'héritabilité est la plus forte pour la longévité : lorsque la nourriture est abondante, tous les clones souffrent d'une sénescence accélérée. Bien qu'il existe déjà dans cet environnement une variance génétique conséquente sur la longévité, celle-ci s'accroît considérablement en restriction calorique. De manière générale, il semble que l'héritabilité d'un trait soit plus forte dans l'environnement où ce trait atteint ses valeurs les plus élevées.

○ Les collemboles vieillissent-ils ?

Oui, les collemboles, individuellement, vieillissent. Ce vieillissement affecte nombre de leurs traits. Leur fécondité, leur fertilité, la qualité des œufs diminuent avec l'âge : ils pondent moins souvent, des pontes plus petites, des œufs plus petits dont une plus grande proportion est stérile. Ce vieillissement des fonctions de reproduction commence relativement tôt. Quasiment tous les clones en souffrent mais il touche les différents clones de manière différente. Les patrons du vieillissement de la reproduction sont donc susceptibles d'une évolution adaptative.

Ces observations font de *Folsomia candida* un organisme modèle prometteur pour la recherche, l'identification et l'étude des mécanismes génétiques à la base des effets de la restriction calorique sur la longévité. Identifier de tels mécanismes est un enjeu majeur de la biodémographie (Allison, Miller et al. 2001). Le fait que l'on possède plusieurs répliques génétiques pour un même niveau de longévité devrait permettre d'identifier les gènes exprimés qui peuvent être impliqués dans ces effets en faisant appel à des outils moléculaires tels que les puces à ADN (Weindruch, Kayo et al. 2002).

B Des traits qui répondent à l'environnement

○ Les traits d'histoire de vie sont-ils plastiques et flexibles ?

Oui. Nous avons observé que la valeur de la plupart des traits varie en fonction des conditions environnementales. En restriction calorique, par exemple, la croissance est ralentie, la taille adulte plus faible, la maturité retardée, la fécondité au cours de la vie réduite mais la longévité augmentée. La flexibilité a été étudiée pour l'investissement reproducteur et la taille des œufs et nous avons pu montrer que ces traits sont flexibles : les collemboles parviennent à modifier rapidement leur expression à la suite d'un changement soudain des conditions environnementales.

○ La plasticité et la flexibilité peuvent-elles évoluer ?

Pour certains traits, la plasticité n'est pas héritable. Par exemple, la taille des œufs s'est avérée à la fois plastique et flexible sans qu'il existe de variabilité génétique sur cette plasticité, ni sur la flexibilité. Les normes de réactions sont alors parallèles, tous les clones réagissant de la même manière aux différentes conditions environnementales. L'héritabilité de ce trait ne varie alors pas entre environnements.

Pour d'autres traits, la plasticité est héritable. Nous avons ainsi pu montrer l'existence d'une variance génétique sur la manière dont les collemboles ajustent ou modifient la valeur de leurs traits d'histoire de vie en fonction de l'environnement. Cette héritabilité de la plasticité se révèle sous la forme d'un déploiement en éventail des normes de réaction, comme dans le cas de l'investissement dans la reproduction. En présence de nourriture, certains clones parviennent à augmenter leur reproduction beaucoup que d'autres. Les valeurs d'héritabilités sont alors différentes entre les deux environnements. La plasticité d'un trait peut aussi être héritable sans que l'héritabilité de ce trait ne change entre environnements ; dans ce cas, les normes de réaction se croisent - exemple du succès reproductif total. On observe le même phénomène lorsque la variance intra-clone augmente avec la variance génétique du trait comme par exemple pour le taux d'investissement relatif.

Quant à la flexibilité, elle présente un degré significatif d'héritabilité pour certains traits (taux d'investissement relatif), mais pas pour d'autres (taille des œufs).

○ Ces réponses aux changements de conditions environnementales sont-elles adaptatives ?

Oui, elles peuvent l'être. Cela a été clairement démontré pour la flexibilité de la taille des œufs et la plasticité de la croissance post maturation et de la taille adulte. On peut d'ailleurs remarquer qu'il n'existe pas (plus ?) de variance génétique pour la flexibilité de la taille des œufs, ce qui pourrait s'interpréter comme conséquence de la nature adaptative de ce trait, et de sa fixation dans les populations.

○ Un exemple : réguler la taille des œufs.

Nous avons pu montrer l'existence, chez *Folsomia candida*, d'effets maternels sur plusieurs traits d'histoire de vie. Un des principaux effets maternels porte sur la taille des œufs, qui varie fortement, la variance étant structurée à plusieurs niveaux : environ 50% de cette variance provient de différences de tailles d'œufs au sein d'une même ponte, 25% de différences de tailles moyennes d'œufs entre différentes pontes au sein d'un même génotype, et les derniers 25% proviennent de différences héritables entre clones.

Produire des œufs plus gros permet de produire des jeunes eux-mêmes plus gros. Ceux-ci atteindront maturité et taille adulte plus rapidement. Étant donnée la forte composante génétique de la détermination de la taille des œufs, les effets maternels mis en évidence sont confondus parfois avec ces effets génétiques. Il est probable, notamment en ce qui concerne la maturation, qu'une partie des effets génétiques observés soit due aux différences de tailles d'œufs entre clones.

Nous avons vu d'autre part, qu'en conditions de restriction alimentaire sévère, les jeunes plus gros issus d'œufs en moyenne plus gros survivent mieux. L'avantage lié à une taille d'œufs plus ou moins grande diffère en fonction des conditions environnementales. Les femelles semblent capables d'utiliser une information sur ces conditions environnementales pour ajuster l'investissement moyen effectué dans les œufs pondus : lorsque les conditions s'améliorent, les femelles sont à même de réguler, sur un seul cycle de reproduction, la taille moyenne des œufs pondus.

Cette flexibilité de la taille des œufs s'accompagne d'une forte flexibilité (et plasticité) de l'effort reproducteur : *Folsomia candida* est capable de répondre à un changement brutal des conditions environnementales en ajustant de manière adaptative son effort reproducteur et la taille des œufs produits. Un relâchement de la densité et des contraintes sur les ressources est mis à profit par les individus grâce à une flexibilité de taille de ponte qui s'exprime à deux niveaux : une flexibilité, d'amplitude réduite mais quasi instantanée, permet aux individus d'augmenter le nombre d'œufs produits dans la ponte en cours. Cet effet est suivi par une flexibilité de grande amplitude sur les pontes suivantes. Ces propriétés permettent à cet organisme une remarquable capacité d'adaptation à un environnement fluctuant même lorsque la période des fluctuations est assez courte. Cette flexibilité de la reproduction est à rapprocher de la plasticité de l'investissement dans la reproduction que nous avons mise en évidence en comparant les patrons de reproduction de femelles élevées dans des conditions contrastées.

Flexibilité et plasticité de la reproduction varient entre les clones. Lorsque les conditions environnementales sont limitantes (densité élevée et peu de nourriture), la reproduction est réduite pour tous les clones qui diffèrent alors peu entre eux. Lorsque les conditions s'améliorent, certains clones parviennent à augmenter de manière spectaculaire leur investissement dans la reproduction alors que d'autres répondent de façon plus limitée.

C La constellation des corrélations

○ Quels types de corrélations existent entre différents traits d'histoire de vie ?

Derrière chaque corrélation phénotypique se cachent une corrélation phénotypique intra-clone et une corrélation génétique. Pour certains couples de traits, leur corrélation phénotypique globale est composée de la somme des deux corrélations sous-jacentes *de même signe* (paramètre d'échelle et âge au point d'inflexion, ou longueur et âge à maturité lorsque la nourriture est abondante). Mais le plus souvent, une corrélation phénotypique significative résulte soit uniquement d'une corrélation phénotypique intra-clone (longévité et fécondité totale), soit uniquement d'une corrélation génétique (longévité et effort reproducteur moyen ; taille de ponte et taille des œufs). En théorie, il est possible qu'entre deux traits, coexistent ces deux types de corrélations avec des signes contraires. Cependant, ce cas de figure n'a jamais été observé dans nos données.

Une corrélation entre traits peut aussi exister entre environnements. On ne peut pas alors considérer la corrélation phénotypique intra-clone (cela supposerait d'élever en même temps le même individu dans deux environnements différents !), mais seulement la corrélation génétique. C'est ce que nous avons pu découvrir en étudiant la corrélation génétique entre le potentiel de longévité et le potentiel de reproduction. Ce type de relation est à rapprocher d'une corrélation entre la plasticité et la valeur moyenne des traits.

○ Est-il suffisant d'étudier les relations entre traits deux à deux ?

Une analyse des corrélations entre traits d'histoire de vie limitée à l'étude de couples de traits, est insuffisante. L'analyse de chemins mettant en relation les paramètres des trajectoires de croissance corporelle avec les paramètres de la maturation a pu notamment mettre en évidence que (1) les traits d'histoires de vie sont reliés par des réseaux d'interactions, et (2) des corrélations de second ordre peuvent exister entre traits. La fécondité à maturité est, par exemple, influencée par un effet positif

direct et négatif indirect de la taille à maturité ; l'effet indirect existant par le truchement de l'âge à maturité.

Une approche multi-environnements et multi-traits semble indispensable pour améliorer notre compréhension de l'évolution des traits d'histoire de vie. Afin de préciser la nature des interactions physiologiques et génétiques, directes et indirectes (via un ou plusieurs autres traits intermédiaires) entre différents traits d'histoire de vie, on pourrait utiliser plus systématiquement les méthodes d'équations structurées dont nous avons fait usage au Chapitre 3. Celles-ci permettraient d'analyser un réseau d'interactions entre traits en incluant des variables latentes correspondant à des traits dont on suppose l'existence mais qu'il est impossible de mesurer directement. Ces méthodes nécessitent cependant d'estimer précisément la matrice de variance-covariance entre traits ; or pour démêler les réseaux de corrélations génétiques, il faut disposer d'un grand nombre de mesures et donc de génotypes différentes (plus d'une centaine de clones, (Diamantopoulos & Signaw 2000)). On voit par là l'intérêt d'utiliser un modèle biologique dont les méthodes d'élevage et d'étude autorisent un très grand nombre de réplifications, de manière à acquérir "facilement" le volume de données nécessaire.

○ Les corrélations entre traits correspondent-elle à des compromis ?

Globalement, les compromis attendus et recherchés entre traits d'histoire de vie n'étaient pas au rendez-vous. Malgré une variance interindividuelle forte pour chacun des traits mesurés, nous n'avons pu mettre en évidence aucun compromis physiologique intra-clone clair.

Quelques compromis génétiques sont cependant apparus :

- Compromis entre taille à maturité et précocité de la maturation. Mais ce compromis n'est dû qu'à la maturation tardive de GB et il n'est pas répercuté par un compromis entre précocité et fécondité.
- Compromis entre taille de ponte et taille des œufs. Ce compromis génétique n'est apparent qu'en conditions limitantes et la corrélation entre ces deux traits devient positive dès lors que la disponibilité en ressources augmente.
- Compromis entre effort reproducteur moyen et longévité. Ce compromis existe globalement sous les deux régimes de nourrissage mais il ne se retrouve pas à une échelle évolutive plus fine, au sein de chaque groupe de clones.

Généralement, loin d'observer un compromis, ce sont des corrélations phénotypiques et génétiques positives entre traits que nous avons observés, et ceci plus particulièrement en régime *ad libitum* : les individus et les clones les plus féconds pondent les œufs les plus gros, les individus survivant plus longtemps ont un succès reproductif total plus élevé mais aussi un effort reproducteur plus élevé.

A ces corrélations positives au sein de chaque environnement, s'ajoute le paradoxe d'une survie réduite lorsque les ressources se raréfient.

○ Comment résoudre le paradoxe de la restriction calorique ?

Si l'on considère le couple survie et reproduction dans le cadre classique de la théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie, on s'attendrait à ce qu'un compromis existe entre ces deux traits et que ce compromis soit décalé lorsque les conditions s'améliorent : en augmentant la quantité de ressource, les fonctions de maintenance (survie) et de reproduction devraient se trouver renforcées (Figure 107 A). Or, loin de cela, lorsque les ressources abondent, les fonctions de maintenance semblent être sacrifiées et la longévité des individus est fortement réduite. Ce paradoxe est-il conciliable avec l'existence supposée d'un compromis maintenance et reproduction ? Pour résoudre ce paradoxe nous avons proposé que, dans certaines conditions démographiques, il peut être avantageux d'investir de manière disproportionnelle dans une fonction au détriment de l'autre. Dans une population en croissance démographique, la valeur reproductive résiduelle des femelles étant réduite, des stratégies d'investissement massif dans la reproduction au détriment même de la survie peuvent être sélectionnées. Ces stratégies consistent à glisser le long du compromis longévité-fécondité à mesure

que ce compromis se déplace lorsque les ressources deviennent plus abondantes. C'est ce qui est illustré dans la Figure 107 B. On observe bien alors une réduction de la longévité accompagnée d'une augmentation de la fécondité.

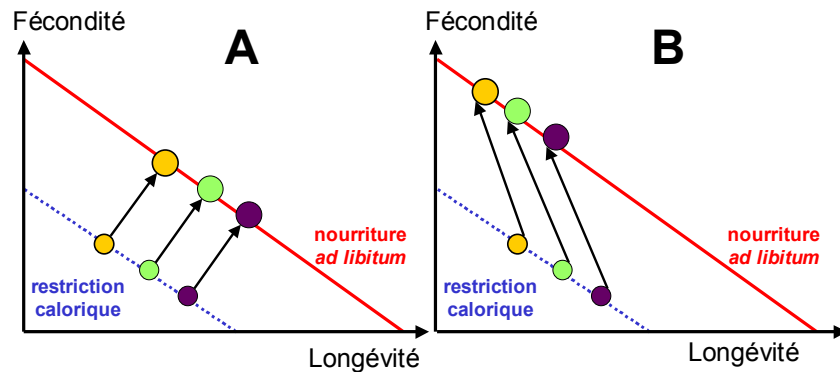


Figure 107 Résoudre le paradoxe de la restriction calorique : compromis génétiques entre survie et reproduction dans deux environnements (traits continus : nourriture ad libitum ; traits pointillés : restriction calorique). Les valeurs génétiques de trois clones sont représentées.

○ Comment résoudre le paradoxe des corrélations positives entre traits d'histoire de vie ?

Si le type d'effet que nous venons de proposer permet de comprendre pourquoi, lorsque les ressources sont abondantes, l'investissement dans une fonction peut se trouver réduit, cela ne permet pour autant pas d'expliquer l'existence de corrélations génétiques positives entre traits. Pour cela, il est classique d'invoquer l'existence de différences génétiques sur les capacités d'acquisition des ressources (van Noordwijk & de Jong 1986 ; Delaguerie, Olivieri et al. 1991 ; Stearns, de Jong et al. 1991 ; Reznick, Nunney et al. 2000). Dans ce contexte, chaque clone différencie par ses capacités d'acquisition de ressources se trouverait sur une ligne de trade-off qui lui serait propre ; il serait dès lors impossible de mettre en évidence ce trade-off avec l'observation d'un seul point. Selon le degré de plasticité de chaque trait pour les différents clones, on peut observer une corrélation positive, nulle ou négative lorsque les conditions sont favorables (Figure 108 C et D), alors qu'un compromis négatif est attendu lorsque les différences de capacité d'acquisition ne peuvent pas être exprimées, c'est à dire par exemple en situation de restriction calorique.

C'est exactement le type de patrons que nous avons observés en étudiant le compromis entre taille de ponte et taille des œufs : la corrélation génétique est négative lorsque les conditions sont limitantes, et devient positive lorsque les ressources deviennent abondantes. Pourtant l'analyse de la corrélation entre fécondité et longévité au sein du groupe DK montre qu'une corrélation positive persiste en régime de restriction calorique, corrélation qui existe aussi entre longévité et effort reproducteur. Cette observation suggère l'existence d'un coût en partie incompressible à posséder une capacité d'acquisition de ressources élevée. Ce coût est largement masqué par les bénéfices apportés par cette capacité d'acquisition supérieure lorsque les ressources sont abondantes, mais il serait dévoilé par le régime de restriction calorique. On peut ainsi expliquer l'existence de corrélations génétiques positives dans les deux environnements (Figure 108 E), assorties du croisement des normes de réactions. Cela semble s'appliquer à nos données de corrélations génétiques entre longévité et effort reproducteur chez les clones du groupe DK, où l'on observe bien un croisement (au moins partiel) des normes de réactions : les "super clones" d'un environnement sont les plus faibles dans l'autre.

On voit à nouveau, qu'étudier et comprendre l'évolution de la longévité en relation avec l'effort reproducteur ne peut pas se faire sans intégrer d'autres traits intimement liés aux deux premiers tels que la capacité d'acquisition des ressources. Il est donc nécessaire de contrôler ou mesurer ce troisième trait puis d'analyser, non pas un compromis entre deux traits, mais un réseau de compromis entre traits multiples, impliquant des environnements différents. Dans notre système, la démonstration expérimentale d'une différence de capacités d'acquisition des ressources entre clones, reste à faire.

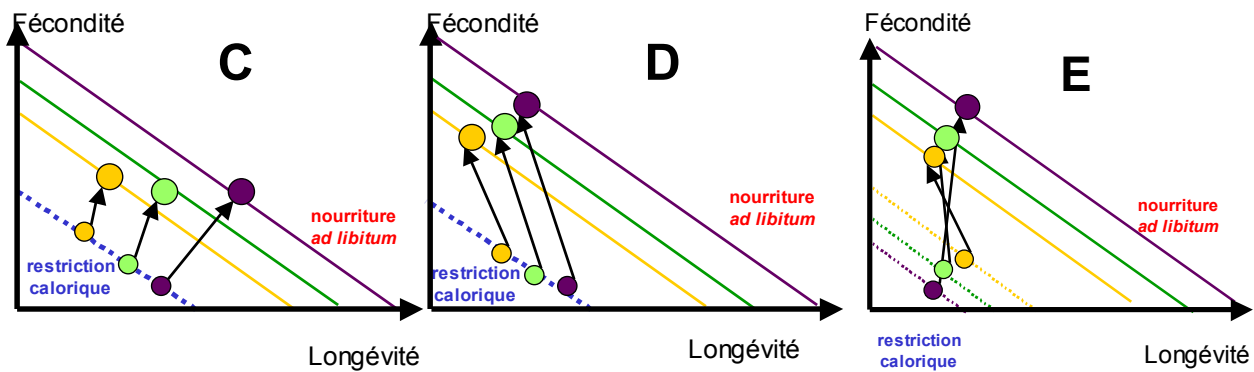


Figure 108 Le paradoxe des corrélations génétiques positives compromis génétiques entre survie et reproduction dans deux environnements (traits continus : nourriture ad libitum ; traits pointillés : restriction calorique). Les valeurs génétiques de trois clones sont représentées.

D Croissance et maturation, des traits dynamiques et intégrés

○ Quels sont les facteurs déterminant les trajectoires de croissance et les stratégies de maturation ?

L'analyse des trajectoires de croissance et des caractéristiques de la maturation des individus sous deux régimes de nourriture a permis de mettre en évidence les points suivants :

- La durée de développement embryonnaire n'est pas héritable.
- La croissance est plus rapide, plus canalisée et les collemboles atteignent une taille adulte plus grande lorsque la nourriture est abondante. En revanche la durée de la période de croissance n'est pas affectée par le régime de nourrissage.
- La forme des trajectoires de croissance est héritable lorsque la nourriture est abondante et ne l'est pas sous régime de restriction calorique, à cause de l'augmentation dans cet environnement de la variabilité de ces trajectoires entre individus d'un même clone.
- La taille à maturité est essentiellement déterminée par la forme des trajectoires de croissance : plus la croissance est rapide, plus la taille à maturité est grande mais plus l'évènement de maturation est précoce sur la trajectoire de croissance. La norme de réaction âge - taille à maturité est concave.
- La forme et la position de la norme de réaction âge - taille à maturité présente une variabilité génétique significative.
- La fécondité à maturité est plus élevée en régime *ad libitum* et augmente avec la taille à maturité. A génotype constant, pour une taille à maturité donnée, une maturation tardive est associée à une fécondité plus faible et semble donc signaler une qualité réduite de l'individu.

○ Démontrer le conflit d'allocation de ressources entre croissance et reproduction

Nos données apportent une démonstration du conflit d'allocation des ressources entre croissance et maturation. La première reproduction a lieu pour tous les clones (sauf pour GB) alors que la croissance n'est pas terminée. Or cette reproduction se caractérise par un investissement reproducteur relatif très faible comparativement aux pontes suivante (sauf à nouveau pour GB), en accord avec l'hypothèse d'un conflit d'allocation de ressources entre les fonctions de reproduction et de croissance : à une période où la croissance est encore très forte, les collemboles investissent proportionnellement moins de ressources dans la reproduction. L'absence de différence prononcée entre l'investissement reproducteur relatif au cours de la première ponte et des pontes suivante chez le clone GB renforce cette interprétation puisque ce clone se singularise par une croissance quasi

terminée lors de la maturation. Ce clone joue en quelque sorte un rôle de témoin dans ce schéma d'interprétation.

○ Et les morues, sont-elles prospères ?

Globalement l'héritabilité de tous les traits liés à la croissance et à la maturité est plus forte lorsque les conditions alimentaires sont bonnes. Si l'on généralise ce résultat et que l'on fait un lien entre présence abondante de nourriture et faiblesse des effets de densité-dépendance, une prédiction applicable aux populations de poissons soumises à de fortes pressions de pêche que nous évoquions au Chapitre 1 se dégage : la vitesse d'évolution des normes de réaction pour l'âge et la taille à maturité des populations risque d'augmenter à mesure que les stocks s'effondrent (en supposant la variabilité génétique constante). Ce résultat est inquiétant puisqu'une maturation précoce implique une fécondité réduite et donc un recrutement à terme réduit. Les stocks pourraient donc avoir encore plus de mal à se reconstituer même après l'arrêt complet de l'exploitation par les pêcheries (Law 2000 ; Olsen, Heino et al. 2004). Le système pourrait ainsi se trouver piégé dans un vortex évolutif conduisant à son effondrement (Dieckmann & Ferrière 2004).

○ Peut-on étudier la norme de réaction âge - taille à maturité indépendamment des trajectoires de croissance ?

Très clairement : non. Nos résultats indiquent que les stratégies de croissance et de maturation sont intimement liées. Il est nécessaire d'analyser conjointement ces deux traits si l'on veut comprendre les mécanismes et les contraintes de leur évolution. Des approches théoriques nouvelles bouclant la rétroaction éco-évolutive devront donc intégrer l'évolution de la maturation et l'évolution des trajectoires de croissance (Heino, Dieckmann et al. 2002).

E Contexte macro-évolutif

○ Combien de stratégies biodémographiques ?

Nous avons vu au cours du 0 que les 11 clones étudiés forment du point de vue phylogénétique deux groupes distincts, avec d'une part les clones DK, GM, PB, US, TO WI qui constituent un râteau non (encore) résolu sur l'arbre, et d'autre part les clones AP, BR, BV, GB et HA (Figure 23, page 48). La topologie de ce dernier groupe est mieux résolue et on peut remarquer la position basale du clone GB. Il n'est pas évident de rattacher ces groupes de clones à des origines géographiques définies, ce qui est peut-être le signe d'une forte capacité de dispersion et de colonisation (sans doute aidée par les activités humaines) et/ou d'une divergence très ancienne de nos lignées.

Ces 11 clones se séparent en deux groupes de stratégies biodémographiques distinctes, groupes qui correspondent à deux clades phylogénétiques distincts. Les patrons d'évolution des traits d'histoire de vie correspondent donc étroitement à la topologie phylogénétique. La première stratégie regroupe des clones ayant un fort potentiel reproducteur, potentiel qui ne peut s'exprimer qu'en présence de ressources abondantes. Ces clones sont victimes d'une sénescence accélérée, leur survie s'améliorant peu en restriction calorique. La capacité du second groupe de clones à augmenter leur reproduction lorsque les ressources sont abondantes est beaucoup plus réduite, mais leur sénescence est retardée et leur longévité extrêmement prolongée sous restriction calorique. Ces patrons reflèteraient l'existence de compromis génétiques entre potentiel de survie et potentiel reproducteur.

Nous avons retrouvé ces deux groupes quasi systématiquement tout au long de notre étude. On peut remarquer que ce sont les clones à fort potentiel reproducteur (DK, GM, PB, TO, US et WI) qui produisent des œufs de taille supérieure. Or nous avons pu mettre en évidence qu'une taille d'œufs plus grande est associée, non seulement à une meilleure survie des jeunes en condition de restriction alimentaire poussée, mais aussi à une avance sur la trajectoire de croissance, une taille adulte et surtout une maturité atteintes plus tôt. On peut alors imaginer que ces clones vont se trouver plus souvent dans un contexte démographique de forte croissance populationnelle dans lequel une pression très

forte est susceptible de s'exercer sur la précocité de la maturation et de la croissance. En effet, produire des jeunes légèrement "en avance", capables d'atteindre leur vitesse de croissance maximale le plus vite possible et avant que les ressources ne diminuent, peut, dans un tel environnement se révéler avantageux.

○ À quelle vitesse les traits d'histoire de vie évoluent-ils ?

Nos données permettent d'apporter deux éléments de réponse :

Le premier mode d'évolution des traits d'histoire de vie est le changement de fréquence de lignées clonales au sein d'une population composée de plusieurs clones. La plupart des traits d'histoire de vie que nous avons mesurés se sont révélés être héréditaires. Il semble donc que ceux-ci puissent évoluer rapidement dès lors que les populations soumises à la sélection naturelle sont composées d'un mélange de clones. Nous n'avons malheureusement pas pu échantillonner suffisamment de populations naturelles pour quantifier leur degré de variabilité génétique. Il est en revanche possible que dans la nature, la variabilité génétique puisse être localement, rapidement perdue à cause de la sélection, ou simplement par effet fondateur.

Le deuxième mode d'évolution est l'apparition de mutations modifiant la valeur génétique des traits d'histoire de vie au sein d'une lignée clonale. La très forte correspondance entre les différentes stratégies biodémographique et la topologie de l'arbre phylogénétique semble indiquer qu'il existe de fortes contraintes génétiques limitant l'amplitude des nouveautés évolutives. Dans chacun des deux groupes de clones, les lignées semblent en partie prisonnières d'une stratégie biodémographique particulière. L'évolution est néanmoins possible mais semble limitée le long de chacun de ces chemins évolutifs. Cette observation laisse supposer l'existence de structures génétiques rigides différant entre lignées. Une de leurs conséquences les plus remarquables concerne la plasticité de longévité, qui est clairement bimodale. Cependant, un clone tel que AP, qui parvient à hisser sa capacité reproductive vers des valeurs proches de celles de l'autre groupe de clones, suggère que les contraintes limitant l'évolution au sein d'un groupe ne sont pas absolues et peuvent être en partie érodées.

Globalement, il apparaît que les structures et contraintes génétiques diffèrent selon l'échelle phylogénétique à laquelle on les observe. Aussi la matrice de variance-covariance génétique entre traits varie-t-elle selon le niveau génétique à laquelle elle est observée. Cette matrice est donc elle-même en évolution. La sélection naturelle peut aussi attaquer et modeler les compromis génétiques entre traits, et parvient ainsi à modifier et élargir le champ phénotypique accessible à l'évolution adaptative.

○ Résoudre le paradoxe du clone GB ?

Le clone GB semble se distinguer des autres clones par sa position basale sur l'arbre phylogénétique mais aussi par nombre de ses traits. Sa durée de développement embryonnaire dépasse celle de tous les autres clones ; il se singularise par une maturation très tardive et un très faible potentiel de croissance post maturation.

Ce clone présente l'étonnante incapacité à tirer partie de la présence de ressources abondantes dans son milieu pour augmenter son potentiel reproducteur : la norme de réaction relative à son succès reproductif total (Figure 90, page 137) reste désespérément plate et c'est à peine si celle de son taux d'investissement reproducteur se redresse légèrement (Figure 84, page 132). Ce clone cumule à son palmarès de handicaps démographiques le record des pontes les moins fertiles (Figure 82, page 131) et de l'intervalle inter-pontes le plus élevé (Figure 76 et Figure 77). Certes, sa survie est bonne en conditions de restriction alimentaire mais elle reste la plus faible de son groupe. Il ne se rattrape que par une survie légèrement supérieure aux autres clones lorsque la nourriture est abondante. Le cumul de tous ces handicaps fait qu'il a la plus faible valeur sélective dans les deux environnements analysés (Figure 110). Si l'on arrive à comprendre l'existence de "super collembolles" comme celle de "super daphnies" (Reznick, Nunney et al. 2000), comment l'évolution peut-elle maintenir de tels "infer clones" ? Peut-être, n'avons-nous simplement pas utilisé les conditions environnementales dans lesquelles il parvient à redresser les antennes. Aux cours de nos expériences nous avons constaté dans

certaines conditions environnementales l'existence d'une mortalité élevée probablement d'origine infectieuse (bactéries ?, microsporidies (Bigliardi & Carapelli 2002) ?). Or, bien que nous ne l'ayons pas quantifié, il nous est apparu que les individus GB résistaient particulièrement bien à ces infections. Le clone GB disposerait-il d'un système de défense contre les agents pathogènes particulièrement efficace mais coûteux ? D'autre part, si la parthénogenèse est due comme on peut le penser à la présence d'une bactérie de type *Wolbachia* (cf. Chapitre 2B II 1), page 29), un clone luttant de manière plus efficace contre les pathogènes pourrait réduire sa charge interne de *Wolbachia*. Si celle-ci influençait le développement d'œufs non fécondé, une charge plus faible de *Wolbachia* pourrait être la cause des grandes proportions d'œufs stériles caractéristiques des pontes de GB. Chez la drosophile, certaines souches infectées par des *Wolbachia* voient leur développement s'accélérer à partir d'un certain âge, entraînant une dégénération des tissus de leur hôte et une sénescence accélérée (Min & Benzer 1997). Ceci n'est pas sans rappeler les patrons de sénescence des clones du groupe DK. Ce type de système hôte-symbiote/parasite est complexe mais ô combien fascinant puisque la résultante de l'interaction peut dépendre du génotype du symbiote et de celui de l'hôte (Fry & Rand 2002).

F Perspectives

○ Méthodes statistiques

Dans le système expérimental sophistiqué que nous avons développé, la grande quantité de données récoltées, la précision des mesures, le niveau conséquent de réplication associé à des plans expérimentaux équilibrés, le contrôle des conditions environnementales, l'utilisation d'outils statistiques paramétriques permettant de prendre en compte les données répliquées nous ont dans l'ensemble fourni une puissance statistique élevée, rendant possible la détection de nombreux effets, même faibles. Cependant, le niveau de variation expliqué par les effets mis en évidence aurait mérité d'être quantifié systématiquement.

La plupart des traits d'histoire de vie se sont révélés être héritable ; le contrôle de la variance environnementale ayant sans doute facilité la détection de ces héritabilités. D'autre part, pour certaines mesures d'hérabilité, nous avons inclus dans les modèles en *effet fixe* certaines covariables ayant un effet direct sur la variable étudiée (la taille de l'individu influe directement sur sa fécondité, par exemple). Ceci a pour effet de réduire la variance résiduelle et donc de gonfler la valeur de l'hérabilité. La notion d'hérabilité prend alors un sens différent de celui entendu par d'autres auteurs : il s'agit de la part de variance d'un trait due à des facteurs génétiques lorsqu'on compare des individus équivalents dans des conditions environnementales similaires. Cette méthode peut biaiser les estimations si les valeurs des variables qui sont ajustées dans la partie fixe du modèle sont elles-mêmes sous l'influence d'effets génétiques. Le problème d'analyse ainsi posé fera l'objet de travaux méthodologiques futurs.

○ Comprendre l'origine et la signification des variations inter-individuelles intra-génotype et intra-environnement

Malgré les différents niveaux de contrôle que nous venons d'évoquer (effets maternels, génétiques, et environnementaux), il existe une forte variabilité dans l'expression des traits d'histoire de vie à environnement, génotype et même individu constant. Comment interpréter cette variation ?

Une partie provient certainement des erreurs de mesures, erreurs qui peuvent se cumuler lorsqu'on analyse des variables intégrant plusieurs mesures (mesures des taux d'investissement reproducteur, effort reproducteur par exemple).

Une autre fraction de cette variance peut provenir du fait que les mesures que nous avons effectuées sont incomplètes et n'incorporent pas des paramètres essentiels. La taille des collemboles, par exemple, a été étudiée uniquement par le truchement des mesures de longueur corporelle. Or, des individus de même longueur peuvent avoir des corpulences très différentes et ceci plus particulièrement entre environnements. Lorsque la nourriture est abondante, ce sont des collemboles

mafflus qui peuplaient nos élevages, et les mesures de taux d'investissement reproducteur que nous avons faites sont sans doute biaisées de ce fait.

Les variations inter-individuelles peuvent aussi résulter d'effets maternels ou de conditions environnementales qui auraient échappé à nos protocoles de standardisation et aux mesures de contrôle que nous avons effectuées. La forte variation de tailles d'œufs au sein d'une ponte (50% de la variation totale) n'a par exemple pas pu être correctement prise en compte puisque qu'à chaque individu étudié, nous n'avons pas pu attribuer la taille de l'œuf dont il était issu (mais seulement celle de l'œuf moyen de sa ponte). D'autre types d'effets maternels non mesurables directement (qualité des jeunes produits par exemple), pourraient aussi exister. Notre plan expérimental ne permet pas la mesure de tels effets puisque nous avons minimisé le nombre de jeunes sœurs suivies issues d'une même mère ; cependant, certaines observations en laissent supposer l'existence. Il en est ainsi des données représentées sur la Figure 109 : plusieurs couples de sœurs montrent des trajectoires de croissance ou bien des durées de vie étrangement similaires (sauf pour les deux femelles issues de la mère PB4, présentées comme témoin). À l'avenir, nous construirons une expérience dont le protocole donnera la puissance suffisante pour vérifier si ces ressemblances sont uniquement dues au hasard, ou s'il existe bien des effets maternels pouvant affecter par exemple la durée de vie des individus et peut être plus particulièrement la mortalité des jeunes adultes.

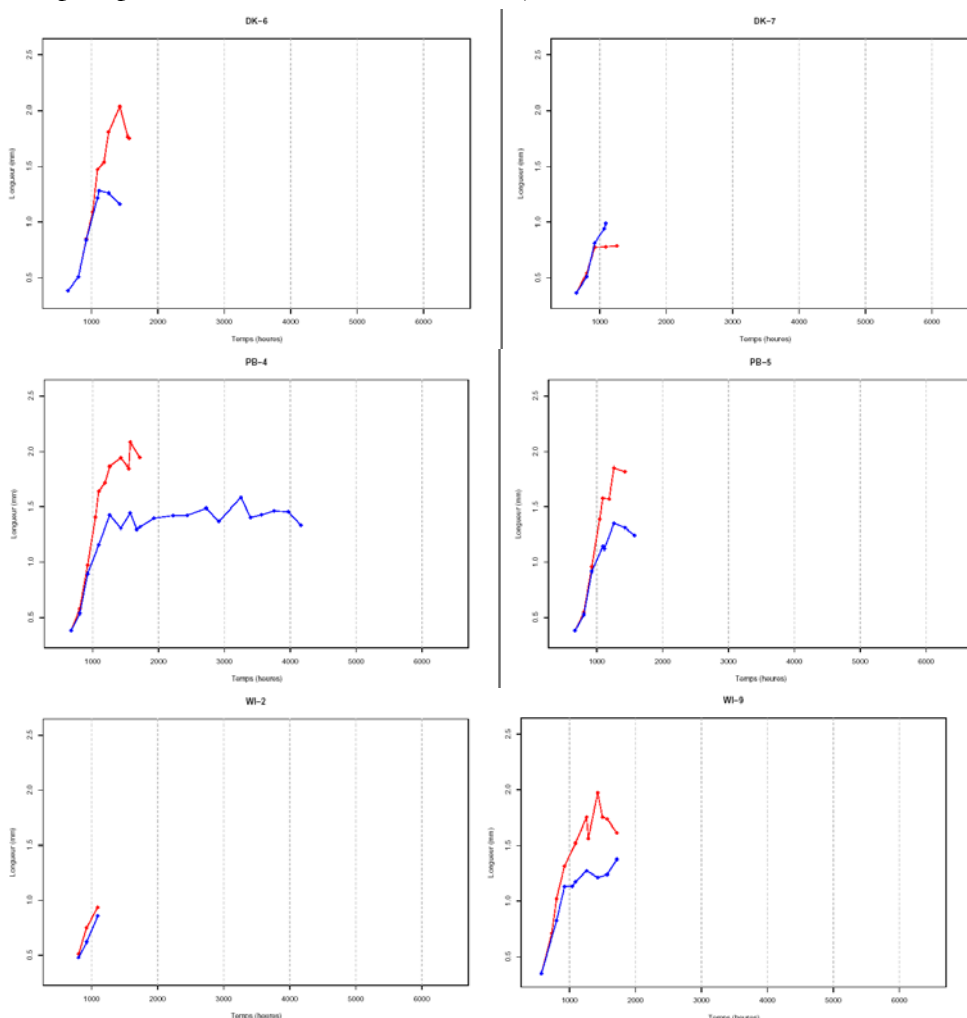


Figure 109 Ressemblances fraternelles : exemples de trajectoires de croissance pour six couples de sœurs (rouge : nourriture abondante ; bleu : nourriture rare). La fin des trajectoires marque la mort des individus.

Enfin, la variance inter-individuelle pourrait résulter d'une stochasticité intrinsèque des processus de développement, susceptible de conduire des individus partageant strictement les même génotypes, effets maternels et conditions environnementales, vers des phénotypes différents (Spudich &

Koshland 1976). Cette propriété pourrait servir de support à une stratégie de type 'bet-hedging', dont il serait intéressant d'étudier la variance génétique et la plasticité.

○ Des individus aux populations : traits d'histoire de vie et invasions

Nous avons étudié un grand nombre de traits d'histoire de vie dont on sait qu'ils sont par définition intimement liés au taux d'accroissement des populations des individus qui les expriment (Caswell 2000).

En collaboration avec Tom van Dooren (Université de Leyde, Pays-Bas), nous avons calculé une fonction intégrant l'ensemble des traits d'histoire de vie des individus, de la maturation à la mort, pour calculer le taux d'accroissement intrinsèque de chaque clone dans chacun des deux environnements. Cette fonction prend en compte la distribution de la reproduction au cours de la vie et les profils de survie de chaque clone dans chaque environnement. Les résultats (Figure 110) révèlent une capacité d'accroissement exponentielle chez tous les clones, mais le degré varie fortement en fonction de l'environnement. Ainsi, les envahisseurs les plus performants diffèrent entre environnements.

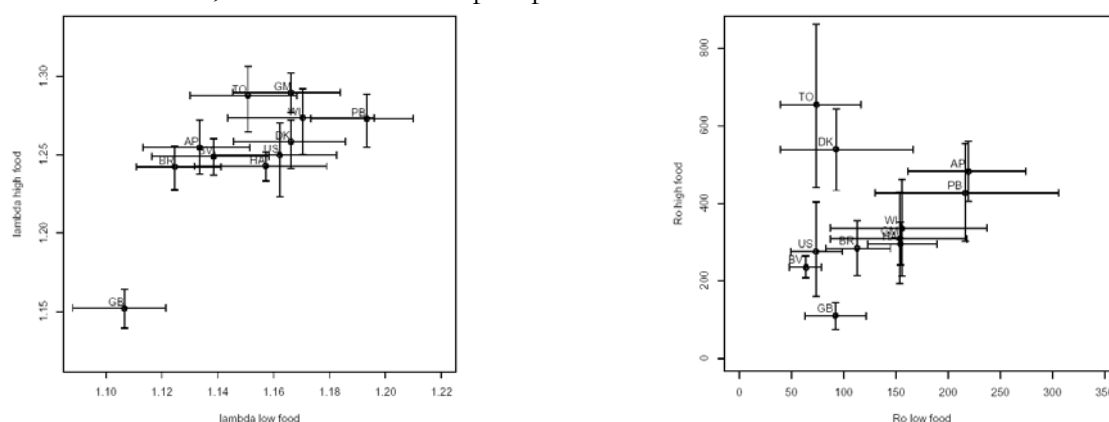


Figure 110 Valeurs calculées du taux d'accroissement géométrique (λ) et du paramètre de renouvellement (R_0) pour chacun des clones dans chaque environnement, avec intervalles de confiance à 95%.

○ Des individus aux (petites) populations : extinction

Nos données s'accordent avec l'hypothèse d'une flexibilité adaptative pour plusieurs traits. On peut dès lors s'interroger sur les conditions environnementales dans lesquelles elle a évolué. Dans la nature, les populations sont sans doute sujettes à de fortes fluctuations extrinsèques des conditions environnementales. On peut alors s'attendre à ce que la flexibilité des traits d'histoire de vie ait évolué pour faire face à ces conditions (adaptation locale) et conférer un avantage à des individus immigrants vers des environnements nouveaux et changeants. Les différentes stratégies biodémographiques que nous avons mises en évidence diffèrent-elles par les propriétés qu'elles confèrent aux populations face à ces fluctuations extrinsèques ? Si la flexibilité des traits d'histoire de vie représente une adaptation vis à vis de ces fluctuations, à quelle type de fréquence et de structuration temporelle ces fluctuations sont-elles le mieux adaptées ? Afin d'aborder ce type de questions, nous nous sommes intéressés à la capacité d'établissement d'une population à partir de quelques individus fondateurs (5 adultes) dans un environnement soumis à une forte stochasticité environnementale. Dans une étude préliminaire rapportée au Chapitre 7A VII, nous n'avons utilisé qu'un seul clone (TO). Les conditions environnementales ont été manipulées en appliquant ou en n'appliquant pas un événement de prédation artificielle tous les deux jours sur les petites populations suivies, cette prédation tuant en moyenne 1/3 des individus présents. La structuration temporelle des événements de prédation fut manipulée en faisant varier la probabilité de transition entre événements (prédation ou pas) tous les deux jours. Ces traitements furent croisés avec deux modes d'introduction des individus dans la population : un mode synchrone où les cinq adultes sont introduits en même temps et un mode différé avec introduction des individus les uns après les autres. Nous poursuivrons ce travail en

recherchant l'effet de la variabilité génétique dans la réponse des petites populations au patron de stochasticité environnementale.

○ Des individus aux (grandes) populations : régulation.

Afin de déterminer l'influence de la densité et de la structure des populations sur la reproduction moyenne des individus et le recrutement, et donc sur la dynamique future de la population, nous avons effectué un suivi démographique précis d'une cinquantaine de populations provenant des différents clones en recensant chaque semaine pendant plus d'une année, les individus présents et leur taille corporelle (cf. Chapitre 2D IV, page 43 pour les méthodes). L'analyse de ces dynamiques devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes de densité-dépendance dans des populations réelles et de mettre en relation les paramètres observés au niveau des populations aux traits mesurés individuellement. La Figure 111 montre la structure de 20 populations en fonction du temps. On peut alors analyser la topologie structuro-temporelle de ces populations. La réplication de plusieurs populations par génotype permettra d'estimer les valeurs d'héritabilités de paramètres démographiques populationnels décrivant la stabilité, la capacité portante moyenne, la structure en taille. Sur la Figure 111 il est possible d'observer de fortes différences de structure et de taille des populations. On voit par exemple que les effectifs des populations des clones DK, TO et US sont beaucoup plus élevés que chez AP ou GB. D'autre part, les structures de ces populations sont différentes : alors que les populations des clones DK, US et TO sont dominées par un grand nombre de juvéniles, les populations d'AP et surtout GB possèdent une proportion d'adultes bien plus grande. Enfin, on peut noter que les effectifs des populations ne sont pas stables mais fluctuent au cours du temps (Figure 112). On peut observer distinctement des cycles d'une période de plus de 100 jours qui sont probablement liés au vieillissement en reproduction et en survie de certaines cohortes. Au cours de ces fluctuations, la taille de la population peut être réduite de moitié et chaque réduction de densité est suivie par une phase de croissance rapide de la population, indiquant l'existence de puissants mécanismes de régulation.

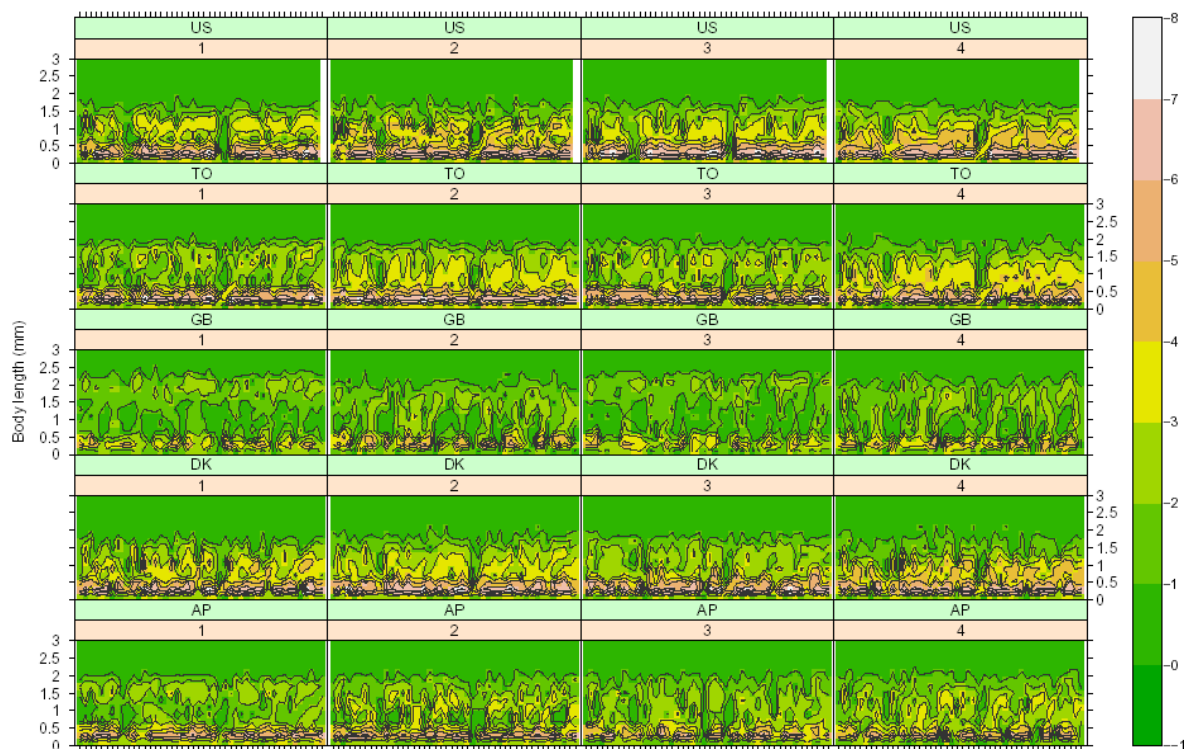


Figure 111 Dynamiques de l'effectif et de la structure de vingt populations monoclonales provenant des clones AP, DK, GB, TO, et US. Le temps est représenté en abscisse (une marque par semaine; la durée du suivi est d'environ 450 jours) et les classes de taille en ordonnée. Les codes de couleurs représentent le logarithme de l'effectif présent dans chaque classe de taille.

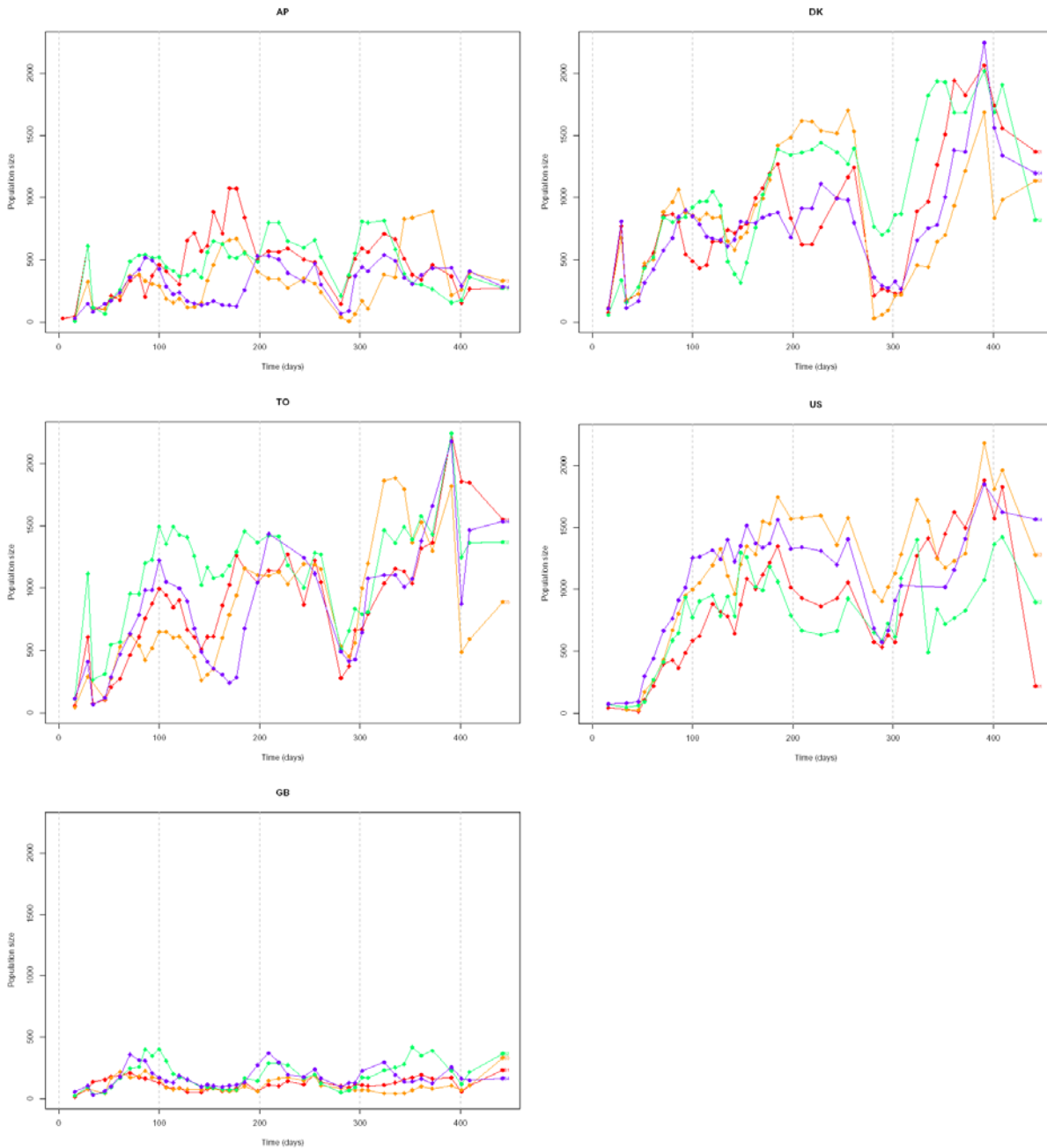


Figure 112 Dynamiques (effectifs en fonction du temps) de vingt populations monoclonales provenant de cinq clones (quatre populations par clone) et suivies pendant 450 jours. L'effondrement des effectifs autour de 270 jours est dû au changement de boîte effectué à cette période qui s'est soldé par une forte mortalité juvénile. La population de GB étant constituée essentiellement d'adultes, cette mortalité ne l'a que très peu affecté.

La taille moyenne des populations varie notablement entre clones. Elle peut atteindre plus de 2000 individus par boîte pour les clones ayant les plus fort potentiels reproducteurs alors qu'elle est bien plus réduite (autour de 100 à 400 individus pour GB) pour les clones à reproduction plus faible (GB puis AP). On voit par là que les conditions démographiques engendrées par la dynamique interne des populations vont être extrêmement variables aussi bien dans leur valeur moyenne que dans leur variance (amplitude et fréquence des fluctuations). On a ici une illustration manifeste de la boucle de rétroaction éco-évolutive : nous avons vu que l'expression des traits d'histoire de vie ainsi que leur héritabilité dépend fortement du contexte démographique ; on voit ici que ce contexte démographique est lui-même sous l'influence directe de la valeur et de la plasticité de ces traits. Les organismes et l'environnement qu'ils génèrent en partie forme un système dynamique complexe.

Dans ce système les processus de densité-dépendance jouent un rôle primordial. L'analyse des stratégies biodémographiques que nous avons effectuée sur des individus isolés nous renseignerait sur les mécanismes de régulation impliqués à condition que la disponibilité des ressources que nous avons manipulée intègre les effets principaux de la densité-dépendance. En est-il vraiment ainsi ?

- **Les facettes multiples de la densité dépendance.**

Dans la travail présenté ici, l'environnement a été systématiquement manipulé en modifiant la quantité de ressources disponibles, mimant les conditions environnementales associées à des contextes démographiques différents, tout en nous assurant la possibilité de mesures répétées sur des individus isolés suivis sur tout ou partie de leur vie. Dans le Chapitre 4, densité et niveau de ressources ont été manipulés conjointement. Dans les autres chapitres, seul le niveau de ressources était modifié tandis que la densité restait constante. L'effet direct de la densité ne nous était donc pas accessible. Une partie de notre projet expérimental vise à analyser les effets d'une manipulation conjointe de la densité et du niveau de ressources. Une expérience de ce type a déjà été menée sur deux clones, GB et GM (cf. Chapitre 1A I, page 253). Les résultats indiquent clairement l'existence de trois facteurs agissant directement sur la fécondité : le génotype, la densité en elle-même et la disponibilité des ressources. L'effet de chacun de ces trois facteurs est du même ordre de grandeur. Green (Green 1964) avait déjà décrit un effet direct de la densité chez *Folsomia candida* : des densités élevées induisent une régression de la plaque génitale chez cette espèce - un stress contraceptif, en quelque sorte. Nous avons montré de plus que l'effet direct de la densité diffère entre clones. Ainsi, la sensibilité des clones à la densité pourrait être héritable et donc soumise à sélection. Dans cette optique, la réduction de fécondité due au stress social aurait valeur adaptative. De par sa reproduction parthénogénétique, les individus présentent un degré d'apparentement génétique quasi égal à un. Des traits a priori défavorables pour les individus mais favorables pour une structure de groupe pourraient alors évoluer ; il pourrait en être ainsi d'une limitation de la taille de population par un contrôle individuel des naissances (Goodnight, Schwartz et al. 1992 ; Goodnight & Stevens 1997), offrant l'exemple d'un comportement altruiste (Le Galliard, Ferriere et al. 2003). Dans ce contexte il serait intéressant de savoir s'il existe chez cette espèce des mécanismes de reconnaissance entre apparentés. Dans une population de clones mélangés, un individu répondra-t-il de la même manière à la densité selon que ses voisins partagent ou non son génotype ?

Les interactions sociales semblent donc particulièrement importantes chez cette espèce et doivent être prise en compte dans le bouclage de la rétroaction éco-évolutive (Figure 113).

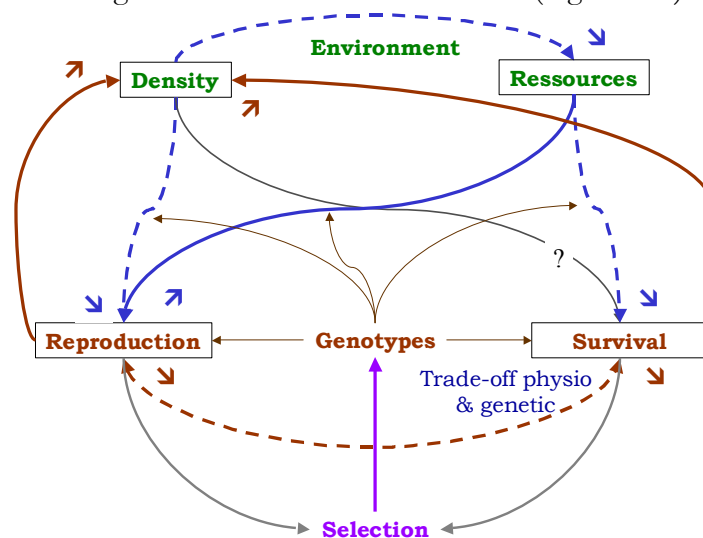


Figure 113 Représentation schématique de la boucle de rétroaction éco-évolutive impliquant les effets réciproques entre disponibilité des ressources et densité d'une part, et traits d'histoire de vie de l'autre. Le sens des effets (positifs ou négatifs) est indiqué par les flèches courtes placées à côté des lignes orientées qui décrivent les relations de causalité entre paramètres.

○ **Boucler la boucle, le Saint Graal de l'évolutionniste.**

Une approche fondée uniquement sur l'optimisation est insuffisante pour fournir un cadre théorique général à l'évolution des traits d'histoire de vie (Rueffler, Van Dooren et al. 2004), et l'un des enjeux majeurs de l'écologie évolutive est de parvenir à une compréhension du fonctionnement de la boucle de rétroaction éco-évolutive intégrant les dimensions écologiques et évolutives. Comme bien souvent dans cette branche de la biologie, les approches théoriques sont en avance sur les approches expérimentales ou empiriques. Boucler la boucle de rétroaction éco-évolutive nécessite une connaissance approfondie de l'influence des conditions environnementales sur l'expression des traits liés à la valeur sélective de l'organisme d'étude, et de connaître l'héritabilité de chacun de ces traits et la manière dont celle-ci varie en fonction de l'environnement. Une approche multivariée de la sélection agissant simultanément sur un ensemble de traits est indispensable. Pour prédire la réponse évolutive du système, il faut non seulement connaître la variance génétique de chacun des traits mais aussi la structure de leurs corrélations génétiques. Une étape importante consiste donc à décrire la structure de covariance des traits d'histoire de vie, dans plusieurs environnements (Spitze, Burnson et al. 1991). Le travail présenté ici peut être considéré comme une première avancée dans cette direction.

Chapitre 7 BIBLIOGRAPHIE ET ANNEXES



A Bibliographie

- (2004). "RESOURCES: Hop With the Springtails." *Science* **303**(5665): 1741e-.
- Abrams, P. A. (1991). "The Fitness Costs of Senescence - the Evolutionary Importance of Events in Early Adult Life." *Evolutionary Ecology* **5**(4): 343.
- Abrams, P. A. (1993). "Does increased mortality favor the evolution of more rapid senescence?" *Evolution* **47**(3): 877-887.
- Abrams, P. A. & D. Ludwig (1995). "Optimality theory, Gompertz' Law, and the disposable soma theory of senescence." *Evolution* **49**(6): 1055-1066.
- Aigaki, T., K. H. Seong, et al. (2002). "Longevity determination genes in *Drosophila melanogaster*." *Mechanisms of Ageing and Development* **123**(12): 1531-1541.
- Akbas, Y. & E. Yaylak (2000). "Heritability estimates of growth curve parameters and genetic correlations between the growth curve parameters and weights at different age of Japanese quail." *Archiv Fur Geflugelkunde* **64**(4): 141-146.
- Allison, D. B., R. A. Miller, et al. (2001). "Genetic variability in responses to caloric restriction in animals and in regulation of metabolism and obesity in humans." *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences* **56**: 55-65.
- Anderson, J. M. & I. N. Healey (1972). "Seasonal and Interspecific Variation in Major Components of Gut Contents of Some Woodland Collembola." *Journal of Animal Ecology* **41**(2): 359-.
- Anderson, V. R. & R. T. Alisauskas (2002). "Composition and Growth of King Eider Ducklings in Relation to Egg Size." *The Auk* **119**(1): 62-70.
- Angilletta, M. J., R. S. Wilson, et al. (2003). "Tradeoffs and the evolution of thermal reaction norms." *Trends in Ecology & Evolution* **18**(5): 234-240.
- Arbaciauskas, K. & W. Lampert (2003). "Seasonal adaptation of ex-ephippion and parthenogenetic offspring of *Daphnia magna*: differences in life history and physiology." *Functional Ecology* **17**(4): 431-437.
- Azevedo, R. B. R., V. French, et al. (1996). "Thermal evolution of egg size in *Drosophila melanogaster*." *Evolution* **50**(6): 2338-2345.
- Baichorov, V. M. (1992). "Relations between Fertility, Egg Size, and Reproductive Effort in the *Daphnia-Magna* under Various Density and Temperature Regimes." *Zhurnal Obshchei Biologii* **53**(6): 830-839.
- Barata, C. & D. J. Baird (1998). "Phenotypic plasticity and constancy of life-history traits in laboratory clones of *Daphnia magna* Straus: Effects of neonatal length." *Functional Ecology* **12**(3): 442-452.
- Baron, J. P., R. Ferrière, et al. (1996). "Life history of *Vipera ursinii ursinii* at Mont-Ventoux (France)." *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Serie III Sciences de la Vie* **319**(1): 57-69.
- Baulieu, É.-É. (2002). "Longévité et vieillissement, aspects scientifiques, médicaux et sociaux." *La Lettre de l'Académie des sciences*.
- Bayley, M., S. O. Petersen, et al. (2001). "Drought acclimation confers cold tolerance in the soil collembolan *Folsomia candida*." *Journal of Insect Physiology* **47**(10): 1197-1204.
- Beacham, T. D. (2003). "Comment on "Rapid Evolution of Egg Size in Captive Salmon" (II)." *Science* **302**(5642): 59d-.
- Bell, G. (1984). "Measuring the Cost of Reproduction. I. The Correlation Structure of the Life Table of a Plank Rotifer." *Evolution* **38**(2): 300-313.
- Bell, G. (1984). "Measuring the Cost of Reproduction. II. The Correlation Structure of the Life Tables of Five Freshwater Invertebrates." *Evolution* **38**(2): 314-326.
- Berrigan, D. (1991). "The Allometry of Egg Size and Number in Insects." *Oikos* **60**(3): 313-321.
- Berrigan, D. & E. L. Charnov (1994). "Reaction Norms for Age and Size at Maturity in Response to Temperature - a Puzzle for Life Historians." *Oikos* **70**(3): 474-478.

- Berrigan, D. & J. C. Koella (1994). "The Evolution of Reaction Norms - Simple-Models for Age and Size at Maturity." Journal of Evolutionary Biology **7**(5): 549-566.
- Berry, R. J. & F. H. Bronson (1992). "Life-History and Bioeconomy of the House Mouse." Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society **67**(4): 519-550.
- Bertness, M. D. (1981). "Pattern and Plasticity in Tropical Hermit Crab Growth and Reproduction." The American Midland Naturalist **117**(5): 754-773.
- Bertran, E., M. Santos, et al. (1998). "Antagonist pleiotropic effect of second-chromosome inversions on body size and early life-history traits in *Drosophila buzzatii*." Evolution **52**(1): 144-154.
- Biddle, F. G., S. A. Eden, et al. (1997). "Sex and death in the mouse: Genetically delayed reproduction and senescence." Genome **40**(2): 229-235.
- Bigliardi, E. & A. Carapelli (2002). "Microsporidia in the springtail *Isotomurus fucicolus* (Collembola, Isotomidae) and possible pathways of parasite transmission." Italian Journal of Zoology **69**: 109-113.
- Boggs, C. L. (1997). "Reproductive Allocation from Reserves and Income in Butterfly Species with Differing Adult Diets." Ecology **78**(1): 181-191.
- Bollen, K. A. (1989). Structural equations with latent variables. New York, Wiley.
- Braby, M. F. (1994). "The Significance of Egg Size Variation in Butterflies in Relation to Hostplant Quality." Oikos **71**(1): 119-129.
- Britt, N. W. (1951). "Observations on the life history of the Collembola *Achorutes armatus*." Trans. Amer. microsc. Soc. **70**: 119-132.
- Brooks, A., G. J. Lithgow, et al. (1994). "Mortality-Rates in a Genetically Heterogeneous Population of *Caenorhabditis-Elegans*." Science **263**(5147): 668-671.
- Caley, M. J., L. Schwarzkopf, et al. (2001). "Does total reproductive effort evolve independently of offspring size?" Evolution **55**(6): 1245-1248.
- Campisi, J. (2000). "Aging: Aging, chromatin, and food restriction: Connecting the dots." Science Washington D C **289**(5487): 2062-2063.
- Carey, J. R., P. Liedo, et al. (1992). "Slowing of Mortality-Rates at Older Ages in Large Medfly Cohorts." Science **258**(5081): 457-461.
- Caswell, H. (1982). "Life-History Theory and the Equilibrium Status of Populations." American Naturalist **120**(3): 317-339.
- Caswell, H. (2000). Matrix Population Models, Construction, Analysis and Interpretation, Sinauer.
- Chenon, P., A. Rousset, et al. (2000). "Genetic polymorphism in nine clones of a parthenogenetic collembolan used in ecotoxicological testing." Applied Soil Ecology **14**(2): 103-110.
- Chippindale, A. K., A. M. Leroi, et al. (1993). "Phenotypic Plasticity and Selection in *Drosophila* Life-History Evolution .1. Nutrition and the Cost of Reproduction." Journal of Evolutionary Biology **6**(2): 171-193.
- Christians, J. K. (2002). "Avian egg size: variation within species and inflexibility within individuals." Biological Reviews **77**(1): 1-26.
- Cichon, M. (1997). "Evolution of longevity through optimal resource allocation." Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences **264**(1386): 1383-1388.
- Cichon, M. (2001). "Diversity of age-specific reproductive rates may result from ageing and optimal resource allocation." Journal of Evolutionary Biology **14**(1): 180-185.
- Cournil, A. & T. B.L. Kirkwood (2001). "If you would live long, choose your parents well." Trends in Genetics **17**(5): 233-235.
- Crnokrak, P. & D. A. Roff (2000). "The trade-off to macroptery in the cricket *Gryllus firmus*: a path analysis in males." Journal of Evolutionary Biology **13**: 396-408.
- Crump, M. L. (1981). "Variation in Propagule Size as a Function of Environmental Uncertainty for Tree Frogs." American Naturalist **117**(5): 724-737.

- Curtsinger, J. W., H. H. Fukui, et al. (1995). "Genetic variation and aging." Annual Review of Genetics **29**: 553-575.
- Curtsinger, J. W., H. H. Fukui, et al. (1992). "Demography of Genotypes - Failure of the Limited Life-Span Paradigm in *Drosophila-Melanogaster*." Science **258**(5081): 461-463.
- Curtsinger, J. W., P. M. Service, et al. (1994). "Antagonistic pleiotropy, reversal of dominance, and genetic polymorphism." American Naturalist **144**(2): 210-228.
- Czesak, M. E. & C. W. Fox (2003). "Evolutionary Ecology of Egg Size and Number in a Seed Beetle: Genetic Trade-Off Differs between Environments." Evolution **57**(5): 1121-1132.
- Davidowitz, G., L. J. D'Amico, et al. (2003). "Critical weight in the development of insect body size." Evolution & Development **5**(2): 188-197.
- Day, T. & L. Rowe (2002). "Developmental thresholds and the evolution of reaction norms for age and size at life-history transitions." American Naturalist **159**(4): 338-350.
- de Haan, G., R. Gelman, et al. (1998). "A putative gene causes variability in lifespan among genotypically identical mice." Nature Genetics **19**(2): 114-116.
- de Jong, G. (1990). "Genotype-by-environment interaction and the genetic covariance between environments: multilocus genetics." Genetica **81**: 171-177.
- de Jong, G. (1990). "Quantitative Genetics of Reaction Norms." Journal of Evolutionary Biology **3**(5-6): 447-468.
- de Jong, G. & A. J. van Noordwijk (1992). "Acquisition and Allocation of Resources: Genetic (CO) Variances, Selection, and Life Histories." American Naturalist **139**(4): 749-770.
- Delaguerie, P., I. Olivieri, et al. (1991). "Analytic and Simulation-Models Predicting Positive Genetic Correlations between Traits Linked by Trade-Offs." Evolutionary Ecology **5**(4): 361-369.
- Diamantopoulos, A. & J. A. Siguaw (2000). Introducing LISREL. London, SAGE publications.
- Dieckmann, U. & R. Ferrière (2004). Adaptative dynamics and evolving biodiversity. R. Ferrière, U. Dieckmann & D. Couvet. Cambridge, Cambridge University Press: 188-224.
- Dixon, P. M. (2001). The bootstrap and the jackknife. Describing the precision of ecological indices. Design and analysis of ecological experiments. J. Gurevitch. Oxford, Oxford University Press.
- Djuric, Z., S. M. Lewis, et al. (2001). "Effect of varying dietary fat levels on rat growth and oxidative DNA damage." Nutrition and Cancer-an International Journal **39**(2): 214-219.
- Djuric, Z., M. H. Lu, et al. (1992). "Oxidative DNA Damage Levels in Rats Fed Low-Fat, High-Fat, or Calorie-Restricted Diets." Toxicology and Applied Pharmacology **115**(2): 156-160.
- Draheim, R. & O. Larink (1995). "Effects of differently cultured fungi as a diet of *Collembola*." Acta Zoologica Fennica **0**(196): 168-170.
- Dries, L. A., M. R. Morris, et al. (2001). "Why are some male pygmy swordtails large?" Copeia(2): 355-364.
- Dudycha, J. L. (2001). "The senescence of *Daphnia* from risky and safe habitats." Ecology Letters **4**(2): 102-105.
- Duffy, P. H., R. J. Feuers, et al. (1990). "Effect of Chronic Caloric Restriction on the Circadian Regulation of Physiological and Behavioral Variables in Old Male B6c3f1 Mice." Chronobiology International **7**(4): 291-303.
- Duffy, P. H., R. J. Feuers, et al. (1989). "Effect of Chronic Caloric Restriction on Physiological Variables Related to Energy-Metabolism in the Male Fischer-344 Rat." Mechanisms of Ageing and Development **48**(2): 117-133.
- Duffy, J., Alfred M., J. Clobert, et al. (2002). "Hormones, developmental plasticity and adaptation." Trends in Ecology & Evolution **17**(4): 190-196.
- Ebert, D. (1991). "The Effect of Size at Birth Maturation Threshold and Genetic Differences on the Life-History of *Daphnia-Magna*." Oecologia Berlin **86**(2): 243-250.

- Ebert, D., L. Yampolsky, et al. (1993). "Genetics of life history in *Daphnia magna*: I. Heritabilities at two food levels." Heredity **70**(4): 335-343.
- Ebert, D., L. Yampolsky, et al. (1993). "Genetics of life history in *Daphnia magna*: II. Phenotypic plasticity." Heredity **70**(4): 344-352.
- Edley, M. T. & R. Law (1988). "Evolution of Life Histories and Yields in Experimental Populations of *Daphnia-Magna*." Biological Journal of the Linnean Society **34**(4): 309-326.
- Elgar, M. A. (1990). "Evolutionary Compromise between a Few Large and Many Small Eggs - Comparative Evidence in Teleost Fish." Oikos **59**(2): 283-287.
- Ellison, A. M. (2001). Exploratory data analysis and graphical display. Design and analysis of ecological experiments. J. Gurevitch. Oxford, Oxford University Press.
- Elowitz, M. B., A. J. Levine, et al. (2002). "Stochastic gene expression in a single cell." Science **297**(5584): 1183-1186.
- Ericsson, G., K. Wallin, et al. (2001). "Age-related reproductive effort and senescence in free-ranging moose, *Alces alces*." Ecology **82**(6): 1613-1620.
- Ernande, B., P. Boudry, et al. (2004). "Plasticity in resource allocation based life history traits in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. I. Spatial variation in food abundance." Journal of Evolutionary Biology **17**(2): 342-356.
- Ernsting, G. & A. Isaaks (2000). "Ectotherms, temperature, and trade-offs: Size and number of eggs in a carabid beetle." American Naturalist **155**(6): 804-813.
- Fagot-Largeault, A. (2003). Preuve et niveau de preuve dans les sciences bio-médicales. La vérité dans les sciences. J.-P. Changeux. Paris, Odile Jacob: 200.
- Falconer, D. S. & T. F. C. MacKay (1996). An introduction to quantitative genetics. Essex, Great Britain, Longman.
- Ferrière, R. & J. Clobert (1992). "Evolutionarily Stable Age at First Reproduction in a Density-Dependent Model." Journal of Theoretical Biology **157**(2): 253-267.
- Finch, C. E. & M. R. Rose (1995). "Hormones and the Physiological Architecture of Life-History Evolution." Quarterly Review of Biology **70**(1): 1-52.
- Finch, C. E. & R. E. Tanzi (1997). "Genetics of aging." Science **278**(5337): 407-411.
- Finkel, T. & N. J. Holbrook (2000). "Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing." Nature **408**(6809): 239-247.
- Fischer, K. & K. Fiedler (2001). "Egg weight variation in the butterfly *Lycaena hippothoe*: more small or fewer large eggs?" Population Ecology **43**(1): 105-109.
- Fisher, R. A. (1926). The design of experiments. Edinburg, Olivier & Boyd.
- Fisher, R. A. (1930). The Genetical Theory of Natural Selection. Oxford, Clarenton Press.
- Fleming, I. A., S. Einum, et al. (2003). "Comment on "Rapid Evolution of Egg Size in Captive Salmon" (I)." Science **302**(5642): 59b-.
- Forbes, L. S. (1991). "Optimal size and number of offspring in a variable environment." Journal of Theoretical Biology **150**(3): 299-304.
- Forbes, M. R. L. (1993). "Parasitism and Host Reproductive Effort." Oikos **67**(3): 444-450.
- Forster, M. J., P. Morris, et al. (2003). "Genotype and age influence the effect of caloric intake on mortality in mice." Faseb Journal **17**(2).
- Fox, C. W. (1993). "The Influence of Maternal Age and Mating Frequency on Egg Size and Offspring Performance in *Callosobruchus-Maculatus* (Coleoptera, Bruchidae)." Oecologia **96**(1): 139-146.
- Fox, C. W. (1994). "Maternal and Genetic Influences on Egg Size and Larval Performance in a Seed Beetle (*Callosobruchus-Maculatus*) - Multigenerational Transmission of a Maternal Effect." Heredity **73**: 509-517.
- Fox, C. W. (2000). "Natural selection on seed-beetle egg size in nature and the laboratory: variation among environments." Ecology **81**(11): 3029-3035.

- Fox, C. W., M. L. Bush, et al. (2004). "Evolutionary genetics of lifespan and mortality rates in two populations of the seed beetle, *Callosobruchus maculatus*." Heredity **92**(3): 170-181.
- Fox, C. W. & M. E. Czesak (2000). "Evolutionary ecology of progeny size in arthropods." Annual Review of Entomology **45**: 341-369.
- Fox, C. W., M. E. Czesak, et al. (1999). "The evolutionary genetics of an adaptive maternal effect: Egg size plasticity in a seed beetle." Evolution **53**(2): 552-560.
- Fox, C. W. & D. D. Heath (2003). "Response to Comment on "Rapid Evolution of Egg Size in Captive Salmon" (I)." Science **302**(5642): 59c-.
- Fox, C. W., M. S. Thakar, et al. (1997). "Egg size plasticity in a seed beetle: An adaptive maternal effect." American Naturalist **149**(1): 149-163.
- Fox, G. A. (2001). Failure-time analysis. Design and analysis of ecological experiments. J. Gurevitch. Oxford, Oxford University Press.
- Friedman DB, J. T. (1988). "Three mutants that extend both mean and maximum life span of the nematode, *Caenorhabditis elegans*, define the age-1 gene." J Gerontol. **43**(4): 102-109.
- Fry, A. J. & D. M. Rand (2002). "Wolbachia interactions that determine *Drosophila melanogaster* survival." Evolution **56**(10): 1976-1981.
- Gebhardtthenrich, S. G. & H. L. Marks (1993). "Heritabilities of Growth Curve Parameters and Age-Specific Expression of Genetic-Variation under 2 Different Feeding Regimes in Japanese-Quail (*Coturnix-Coturnix-Japonica*)." Genetical Research **62**(1): 45-55.
- Gillooly, J. F., E. L. Charnov, et al. (2002). "Effects of size and temperature on developmental time." Nature **417**(6884): 70-73.
- Gillooly, J. F. & S. I. Dodson (2000). "The relationship of egg size and incubation temperature to embryonic development time in univoltine and multivoltine aquatic insects." Freshwater Biology **44**(4): 595-604.
- Gisbert, E., P. Williot, et al. (2000). "Influence of egg size on growth and survival of early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) under small scale hatchery conditions." Aquaculture **183**(1-2): 83-94.
- Gisin, H. (1960). Collembolenfauna europeas. Genève, Muséum d'histoire naturelle.
- Glazier, D. S. (1992). "Effects of Food Genotype and Maternal Size and Age on Offspring Investment in *Daphnia-Magna*." Ecology Washington D C **73**(3): 910-926.
- Glazier, D. S. & P. Calow (1992). "Energy Allocation Rules in *Daphnia-Magna* - Clonal and Age-Differences in the Effects of Food Limitation." Oecologia **90**(4): 540-549.
- Goodnight, C. J., J. M. Schwartz, et al. (1992). "Contextual Analysis of Models of Group Selection, Soft Selection, Hard Selection, and the Evolution of Altruism." American Naturalist **140**(5): 743-761.
- Goodnight, C. J. & L. Stevens (1997). "Experimental studies of group selection: What do they tell us about group selection in nature?" American Naturalist **150**: S59-S79.
- Goto, H. E. (1960). "Facultative Parthenogenesis in *Collembola* (Insecta)." Nature **188**(4754): 958-959.
- Green, C., D. (1964). "The life history and fecundity of *Folsomia candida* (Willem), var. *distincta* (Bagnall) (*Collembola*: *Isotomidae*)." Proceedings of the Royal Entomological Society of London, series A **39**: 125-128.
- Green, C. D. (1964). "The effect of crowding upon the fecundity of *Folsomia candida* (William) var. *distincta* (Bagnall) (*Collembola*)." Entomologia Experimentalis et Applicata **7**: 62-70.
- Grimnes, K. A. & R. M. Snider (1981). "An analysis of egg-production in 4 strains of *Folsomia candida* (*Collembola*)." Pedobiologia **22**(4): 224-231.
- Gromko, M. H. (1995). "Unpredictability of Correlated Response to Selection - Pleiotropy and Sampling Interact." Evolution **49**(4): 685-693.
- Grossman, M. & B. B. Bohren (1985). "Logistic Growth Curve of Chickens - Heritability of Parameters." Journal of Heredity **76**(6): 459-462.

- Guarente, L. & C. Kenyon (2000). "Genetic pathways that regulate ageing in model organisms." Nature **408**(6809): 255-262.
- Guisande, C. & Z. M. Gliwicz (1992). "Egg Size and Clutch Size in 2 Daphnia Species Grown at Different Food Levels." Journal of Plankton Research **14**(7): 997-1007.
- Hamilton, W. D. & R. M. May (1977). "Dispersal in stable habitats." Nature **269**(13 October): 578-581.
- Harshman, L. G. & A. A. Hoffmann (2000). "Laboratory selection experiments using Drosophila: what do they really tell us?" Trends in Ecology & Evolution **15**(1): 32-36.
- Hart, R. W. & A. Turturro (1998). "Evolution and dietary restriction." Experimental Gerontology **33**(1-2): 53-60.
- Harvey, G. T. (1983). "A geographical cline in egg weights in Choristoneura fumiferana (Lepidoptera: Tortricidae) and its significance in population dynamics." Canadian Journal of Entomology **115**: 1103-1008.
- Healey, M. C. (2001). "Patterns of gametic investment by female stream- and ocean-type chinook salmon." Journal of Fish Biology **58**(6): 1545-1556.
- Heath, D. D., J. W. Heath, et al. (2003). "Rapid evolution of egg size in captive salmon." Science **299**(5613): 1738-1740.
- Heath, D. D., J. Moya-Larano, et al. (2003). "Response to Comment on "Rapid Evolution of Egg Size in Captive Salmon" (II)." Science **302**(5642): 59e-.
- Heino, M., U. Dieckmann, et al. (2002). "Measuring probabilistic reaction norms for age and size at maturation." Evolution **56**(4): 669-678.
- Heino, M. & V. Kaitala (1996). "Optimal resource allocation between growth and reproduction in clams: Why does indeterminate growth exist?" Functional Ecology **10**(2): 245-251.
- Heino, M. & V. Kaitala (1999). "Evolution of resource allocation between growth and reproduction in animals with indeterminate growth." Journal of Evolutionary Biology **12**: 423-429.
- Heino, M., J. A. J. Metz, et al. (1998). "The enigma of frequency-dependent selection." Trends in Ecology & Evolution **13**(9): 367-370.
- Hipfner, J. M. & A. J. Gaston (1999). "The relationship between egg size and posthatching development in the thick-billed Murre." Ecology **80**(4): 1289-1297.
- Hoffmann, A. A. & J. Merilä (1999). "Heritable variation and evolution under favourable and unfavourable conditions." Trends in Ecology & Evolution **14**(3): 96-101.
- Holling, C. S. (1959). "The components of predation as revealed by a study of small-mammal predation of the European pine sawfly." Canadian Entomologist **91**: 293-320.
- Hopkin, S. P. (1997). Biology of the springtails (Insecta: Collembola). Oxford, Oxford University Press.
- Hsin, H. & C. Kenyon (1999). "Signals from the reproductive system regulate the lifespan of C-elegans." Nature **399**(6734): 362-366.
- Hubber, I. (1958). "Color as an index to the relative humidity of plaster of Paris culture jars." Proceedings of the Entomological Society of Washington **60**: 289-281.
- Huhta, V. (1996). "Community of Mesostigmata(Acari) in experimental habitat patches of forest floor." European Journal of Soil Biology **32**(2): 99-105.
- Huigens, M. E. & R. Stouthamer (2003). Parthenogenesis associated with Wolbachia. Insect symbiosis. K. Bourtzis & T. A. Miller. Boca Raton, CRC press: 247-266.
- Hutchings, J. A. (2004). "Evolutionary biology: The cod that got away." Nature **428**(6986): 899-900.
- Hutson, B. R. (1978). "Effects of variations of the plaster-charcoal culture method on a collembolan, *Folsomia candida*." Pedobiologia **18**: 138-144.
- Hutson, B. R. (1978). "Influence of pH, temperature and salinity on the fecundity and longevity of four species of Collembola." Pedobiologia **18**: 163-179.
- Ihaka, R. & R. Gentleman (1996). "R: A Language for Data Analysis and Graphics." Journal of Computational and Graphical Statistics **5**(3): 299-314.
- Janssens, F. (2004). Collembola of the world <http://collembola.org/>.

- Janzen, F. J. (1993). "An experimental analysis of natural selection on body size of hatchling turtles." Ecology Washington D C **74**(2): 332-341.
- Johnson, D. L. & W. G. Wellington (1980). "Predation of Apochthonius minimus (Pseudoscorpionida: Chthoniidae) on Folsomia candida (Collembola: Isotomidae) I. Predation rate and size selection." Researches on Population Ecology **22**: 339-352.
- Johnson, D. L. & W. G. Wellington (1980). "Predation of Apochthonius minimus (Pseudoscorpionida: Chthoniidae) on Folsomia candida (Collembola: Isotomidae) II. Effects of predation on prey populations." Researches on Population Ecology **22**: 353-365.
- Johnston, T. A. & W. C. Leggett (2002). "Maternal and environmental gradients in the egg size of an iteroparous fish." Ecology **83**(7): 1777-1791.
- Jooisse, E. N. G. & G. J. Testerink (1977). "Role of food in population dynamics of *Orchesella cincta* (Linne) (Collembola)." Oecologia **29**(3): 189-204.
- Jooisse, E. N. G. & H. A. Verhoef (1974). "On the aggregational habits of surface dwelling Collembola." Pedobiologia **14**(2-5): 245-249.
- Jöreskog, K. & D. Sörbom (2003). LISREL, Scientific Software International, Inc.
- Juliano, S. A. (2001). Nonlinear curve fitting. Design and Analysis of Ecological Experiments. J. Gurevitch. Oxford, Oxford University Press: 178-198.
- Kawecki, T. J. (1995). "Adaptive Plasticity of Egg Size in Response to Competition in the Cowpea Weevil, *Callosobruchus-Maculatus* (Coleoptera, Bruchidae)." Oecologia **102**(1): 81-85.
- Keller, L. & M. Genoud (1997). "Extraordinary lifespans in ants: A test of evolutionary theories of ageing." Nature London **389**(6654): 958-960.
- Kenyon, C., J. Chang, et al. (1993). "A C-Elegans Mutant That Lives Twice as Long as Wild-Type." Nature **366**(6454): 461-464.
- King, D. & J. Roughgarden (1982). "Graded allocation between vegetative and reproductive growth for annual plants in growing seasons of random length." Theoretical Population Biology **22**: 1-16.
- Kinnison, M. I., M. J. Unwin, et al. (1998). "Egg size, fecundity, and development rate of two introduced New Zealand chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) populations." Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences **55**(8): 1946-1953.
- Kirkwood, T. B. L. (1977). "Evolution of ageing." Nature **270**: 301.
- Kirkwood, T. B. L. (1989). "DNA, Mutations and Aging." Mutation Research **219**(1): 1-7.
- Kirkwood, T. B. L. (1992). "Comparative Life Spans of Species - Why Do Species Have the Life Spans They Do." American Journal of Clinical Nutrition **55**(6): S1191-S1195.
- Kirkwood, T. B. L. (2002). "Evolution of ageing." Mechanisms of Ageing and Development **123**(7): 737-745.
- Kirkwood, T. B. L. & S. N. Austad (2000). "Why do we age?" Nature **408**: 233-238.
- Klingenberg, C. P. & J. R. Spence (1997). "On the role of body size for life-history evolution." Ecological Entomology **22**(1): 55-68.
- Klironomos, J. N., P. Widden, et al. (1992). "Feeding Preferences of the Collembolan *Folsomia-Candida* in Relation to Microfungal Successions on Decaying Litter." Soil Biology and Biochemistry **24**(7): 685-692.
- Koehler, H. H. (1997). "Mesostigmata (Gamasina, Uropodina), efficient predators in agroecosystems." Agriculture Ecosystems & Environment **62**(2-3): 105-117.
- Koehler, H. H. (1999). "Predatory mites (Gamasina, Mesostigmata)." Agriculture Ecosystems and Environment **74**(1-3): 395-410.
- Koops, M. A., J. A. Hutchings, et al. (2003). "Environmental predictability and the cost of imperfect information: influences on offspring size variability." Evolutionary Ecology Research **5**(1): 29-42.
- Kowald, A. (2002). "Lifespan does not measure ageing." Biogerontology **3**.
- Kozlowski, J. (1992). "Optimal Allocation of Resources to Growth and Reproduction - Implications for Age and Size at Maturity." Trends in Ecology & Evolution **7**(1): 15-19.

- Ku, H. H., U. T. Brunk, et al. (1993). "Relationship between Mitochondrial Superoxide and Hydrogen-Peroxide Production and Longevity of Mammalian-Species." Free Radical Biology and Medicine **15**(6): 621-627.
- Lack, D. (1947). "The significance of clutch size." Ibis **89**: 302-352.
- Lalonde, R. G. (1991). "Optimal Offspring Provisioning When Resources Are Not Predictable." American Naturalist **138**(3): 680-686.
- LaMontagne, J. M. & E. McCauley (2001). "Maternal effects in *Daphnia*: What mothers are telling their offspring and do they listen?" Ecology Letters **4**(1): 64-71.
- Lande, R. (1982). "A Quantitative Genetic Theory of Life History Evolution." Ecology **63**(3): 607-615.
- Larsson, K. & P. Forslund (1992). "Genetic and Social Inheritance of Body and Egg Size in the Barnacle Goose (*Branta-Leucopsis*)." Evolution **46**(1): 235-244.
- Law, R. (2000). "Fishing, selection, and phenotypic evolution." Ices Journal of Marine Science **57**(3): 659-668.
- Le Galliard, J. F., R. Ferriere, et al. (2003). "The adaptive dynamics of altruism in spatially heterogeneous populations." Evolution **57**(1): 1-17.
- Lee, C. K., R. G. Klopp, et al. (1999). "Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction." Science Washington D C **285**(5432): 1390-1393.
- Lee, Q. & P. Widden (1996). "*Folsomia candida*, a "fungivorous" collembolan, feeds preferentially on nematodes rather than soil fungi." Soil Biology and Biochemistry **28**(4-5): 689-690.
- Leonard, M. A. (1984). "Observations on the influence of culture conditions of the fungal feeding preferences of *Folsomia candida* Collembola Isotomidae." Pedobiologia **26**(5): 361-367.
- Leonard, M. A. & P. C. Bradbury (1984). "Aggregative behavior in *Folsomia candida* Collembola Isotomidae with respect to previous conditioning." Pedobiologia **26**(5): 369-372.
- Leroi, A. M., W. R. Chen, et al. (1994). "Long-Term Laboratory Evolution of a Genetic Life-History Trade-Off in *Drosophila melanogaster*. 2. Stability of Genetic Correlations." Evolution **48**(4): 1258-1268.
- Leroi, A. M., A. K. Chippindale, et al. (1994). "Long-Term Laboratory Evolution of a Genetic Life-History Trade-Off in *Drosophila melanogaster*. 1. The Role of Genotype-by-Environment Interaction." Evolution **48**(4): 1244-1257.
- Lessells, C. M. & P. T. Boag (1987). "Unrepeatable repeatabilities: a common mistake." Auk **104**: 116-121.
- Levins, R. (1971). Evolution in Changing Environments: Some Theoretical Explorations. Princeton, Princeton University Press.
- Levitan, D. R. (2000). "Optimal egg size in marine invertebrates: theory and phylogenetic analysis of the critical relationship between egg size and development time in echinoids." American Naturalist **156**(2): 175-192.
- Lister, A., W. Block, et al. (1988). "Arthropod Predation in an Antarctic Terrestrial Community." Journal of Animal Ecology **57**(3): 957-970.
- Lopez, T. M., R. Gredilla, et al. (2002). "Influence of aging and long-term caloric restriction on oxygen radical generation and oxidative DNA damage in rat liver mitochondria." Free Radical Biology and Medicine **32**(9): 882-889.
- Lu, M. H., W. G. Hinson, et al. (1993). "Cell-Proliferation by Cell-Cycle Analysis in Young and Old Dietary Restricted Mice." Mechanisms of Ageing and Development **68**(1-3): 151-162.
- Luckinbill, L. S., R. Arking, et al. (1984). "Selection for Delayed Senescence in *Drosophila-Melanogaster*." Evolution **38**(5): 996-1003.
- Lynch, M. (1977). "Fitness and optimal body size in zooplankton populations." Ecology **58**: 763-774.
- Lynch, M. & B. Walsh (1998). Genetics and Analysis of Quantitative Traits. Sunderland, MA, Sinauer Assocs., Inc.
- Mair, W., P. Goymer, et al. (2003). "Demography of Dietary Restriction and Death in *Drosophila*." Science **301**(5640): 1731-1733.

- Mamou, Y. (2003). L'irrésistible allongement de la durée de la vie bouleverse la société française. Le Monde. Paris.
- Manly, B. F. J. (1997). Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology. Boca raton, Chapman & Hall.
- Marshall, V. G. & D. K. M. Kevan (1962). "Preliminary observations on the biology of *Folsomia candida* Willem, 1902 (Collembola: Isotomidae)." The Canadian Entomologist **94**: 575-586.
- Masman, D., C. Dijkstra, et al. (1989). "Energetic Limitation of Avian Parental Effort - Field Experiments in the Kestrel (*Falco Tinnunculus*)." Journal of Evolutionary Biology **2**(6): 435-455.
- McCleery, R. H., J. Clobert, et al. (1996). "Nest predation and delayed cost of reproduction in the great tit." Journal of Animal Ecology **65**(1): 96-104.
- Medawar, P. B. (1952). An unsolved problem in biology. London, H. K. Lewis.
- Medawar, P. B. (1979). Advice to a young scientist. New York, Harper & Row.
- Merila, J. & M. Andersson (1999). "Reproductive effort and success are related to haematozoan infections in blue tits." Ecoscience **6**(3): 421-428.
- Merila, J. & B. C. Sheldon (1999). "Genetic architecture of fitness and nonfitness traits: empirical patterns and development of ideas." Heredity **83**: 103-109.
- Merry, B. J. (2002). "Molecular mechanisms linking calorie restriction and longevity." International Journal of Biochemistry & Cell Biology **34**(11): 1340-1354.
- Messina, F. J. & A. F. Slade (1999). "Expression of a life-history trade-off in a seed beetle depends on environmental context." Physiological Entomology **24**(4): 358-363.
- Metz, J. A. J., R. M. Nisbet, et al. (1992). "How Should We Define Fitness for General Ecological Scenarios." Trends in Ecology & Evolution **7**(6): 198-202.
- Meyers, L. & J. Bull (2002). "Fighting change with change: adaptive variation in an uncertain world." Trends in Ecology and Evolution **17**(12): 551-557.
- Milne, S. (1960). "Studies on the life histories of various species of Arthropleone Collembola." Proceedings of the Royal Entomological Society of London **35A**: 133-140.
- Min, K. T. & S. Benzer (1997). "Wolbachia, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **94**(20): 10792-10796.
- Mira, A. (2000). "Exuviae eating: a nitrogen meal?" Journal of Insect Physiology **46**(4): 605-610.
- Mitchell, R. J. (2001). Path analysis. Design and analysis of ecological experiments. J. Gurevitch. Oxford, Oxford University Press: 415.
- Mitteldorf, J. (2001). "Can experiments on caloric restriction be reconciled with the Disposable Soma theory for the evolution of senescence?" Evolution **55**(9): 1902-1905.
- Moller, A. P. & F. De Lope (1999). "Senescence in a short-lived migratory bird: Age-dependent morphology, migration, reproduction and parasitism." Journal of Animal Ecology **68**(1): 163-171.
- Montague, J. R., R. L. Mangan, et al. (1981). "Reproductive Allocation in the Hawaiian *Drosophilidae*: Egg Size and Number." American Naturalist **118**(6): 865-871.
- Montaigne, M. E. d. (1595). Les essais, arlea.
- Mousseau, T. A. & D. A. Roff (1987). "Natural selection and the heritability of fitness components." Heredity **59**: 181-197.
- Mueller, L. D. & M. R. Rose (1996). "Evolutionary theory predicts late-life mortality plateaus." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **93**(26): 15249-15253.
- Muenchow, G. (1986). "Ecological use of failure time analysis." Ecology **67**(1): 246-250.
- Mylius, S. D. & O. Diekmann (1995). "On evolutionarily stable life histories, optimization and the need to be specific about density dependence." Oikos **74**(2): 218-224.
- Nelson, J. F., R. G. Gosden, et al. (1985). "Effect of Dietary Restriction on Estrous Cyclicity and Follicular Reserves in Aging C57bl/6j Mice." Biology of Reproduction **32**(3): 515-522.

- Newman, R. A. (1988). "Genetic Variation for Larval Anuran (*Scaphiopus couchii*) Development Time in an Uncertain Environment." *Evolution* **42**(4): 763-773.
- Niewiarowski, P. H. & A. E. Dunham (1998). "Effects of mortality risk and growth on a model of reproductive effort: Why the shine and Schwarzkopf model is not general." *Evolution* **52**(4): 1236-1241.
- Nikola, T., S. Darka, et al. (2004). "The short-term and long-term effects of parental age in the bean weevil (*Acanthoscelides obtectus*)." *Evolutionary Ecology* **18**(2): 187-201.
- Nixon, K. C., . (1999). Winclada (BETA) <http://www.cladistics.com/>. ITHACA, NY, PUBLISHED BY THE AUTHOR.
- Nutman, S. R. (1941). "Function of the ventral tube in *Onychiurus armatus* (Collembola)." *Nature* **148**: 168-169.
- Nylin, S. (1988). "Host Plant Specialization and Seasonality in a Polyphagous Butterfly, *Polygona C-Album* (Nymphalidae)." *Oikos* **53**(3): 381-386.
- Olsen, E. M., M. Heino, et al. (2004). "Maturation trends indicative of rapid evolution preceded the collapse of northern cod." *Nature* **428**(6986): 932-935.
- Olsen, E. M. & L. A. Vollestad (2003). "Microgeographical variation in brown trout reproductive traits: possible effects of biotic interactions." *Oikos* **100**(3): 483-492.
- Orell, M. & E. J. Belda (2002). "Delayed cost of reproduction and senescence in the willow tit *Parus montanus*." *Journal of Animal Ecology* **71**(1): 55-64.
- Palevody, C. (1974). "Relations chronologiques entre cycles de mue et cycles de ponte chez *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae)." *Pedobiologia* **14**: 196-198.
- Palumbi, S. R. (2002). *The Evolution Explosion: How Humans Cause Rapid Evolutionary Change*, W. W. Norton & Company.
- Pangantihon-Kuhlmann, M. P., O. Millamena, et al. (1998). "Effect of dietary astaxanthin and vitamin A on the reproductive performance of *Penaeus monodon* broodstock." *Aquatic Living Resources* **11**(6): 403-409.
- Paoloni-Giacobino, A. & C. Pichard (2003). "Diet and ageing: critical influence of genotype and gene expression profile." *Nutrition Research* **23**(12): 1727-1738.
- Partridge, L. & M. Mangel (1999). "Messages from mortality: the evolution of death rates in the old." *Trends in Ecology & Evolution* **14**(11): 438-442.
- Partridge, L., N. Prowse, et al. (1999). "Another set of responses and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*." *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **266**(1416): 255-261.
- Perez-Velazquez, M., M. L. Gonzalez-Felix, et al. (2003). "Dietary effects on sperm quality of *Litopenaeus vannamei* broodstock." *Journal of the World Aquaculture Society* **34**(1): 92-98.
- Perrin, N. (1989). "Population-Density and Offspring Size in the Cladoceran *Simocephalus-Vetulus* (Muller)." *Functional Ecology* **3**(1): 29-36.
- Perrin, N. (1989). "Reproductive Allocation and Size Constraints in the Cladoceran *Simocephalus vetulus* (Muller)." *Functional Ecology* **3**(3): 279-283.
- Perrin, N. & J. F. Rubin (1990). "On Dome-Shaped Norms of Reaction for Size-to-Age at Maturity in Fishes." *Functional Ecology* **4**(1): 53-57.
- Perrin, N. & R. M. Sibly (1993). "Dynamic-Models of Energy Allocation and Investment." *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**: 379-410.
- Perrins, C. M. (1979). *British tits*. London, Collins.
- Petersson, E., T. Järvi, et al. (1996). "The effect of domestication on some life history traits of sea trout and Atlantic salmon." *Journal of Fish Biology* **48**(4): 776-791.
- Phelan, J. P., M. A. Archer, et al. (2003). "Breakdown in correlations during laboratory evolution. I. Comparative analyses of *Drosophila* populations." *Evolution* **57**(3): 527-535.

- Piersma, T. & J. Drent (2003). "Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design." Trends in Ecology & Evolution **18**(5): 228-233.
- Pinheiro, J. C. & D. M. Bates (2000). Mixed-Effects Models in S and S-PLUS. New York, Springer-Verlag.
- Pletcher (1999). "Model fitting and hypothesis testing for age-specific mortality data." J Evolution Biol **12**(3): 430-439.
- Pletcher, S. D. & J. W. Curtsinger (2000). "The influence of environmentally induced heterogeneity on age-specific genetic variance for mortality rates." Genetical Research **75**(3): 321-329.
- Potti, J. (1993). "Environmental, Ontogenic, and Genetic-Variation in Egg Size of Pied Flycatchers." Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie **71**(8): 1534-1542.
- Promislow, D. E. L. (1991). "Senescence in Natural Populations of Mammals a Comparative Study." Evolution **45**(8): 1869-1887.
- Promislow, D. E. L. & S. D. Pletcher (2002). "Advice to an aging scientist." Mechanisms of Ageing and Development **123**(8): 841-850.
- Promislow, D. E. L., M. Tatar, et al. (1996). "Age-specific patterns of genetic variance in *Drosophila melanogaster*. I. Mortality." Genetics **143**(2): 839-848.
- Pugesek, B. H., A. Tomer, et al., Eds. (2003). Structural Equation Modelling, applications in ecological and evolutionary biology. Cambridge, Cambridge University Press.
- Quinn, G. P. & M. J. Keough (2002). Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge, Cambridge University Press.
- Rahn, H., P. R. Sotherland, et al. (1985). "Interrelationships between Egg Mass and Adult Body-Mass and Metabolism among Passerine Birds." Journal Fur Ornithologie **126**(3): 263-271.
- Rasband, W. (2003). ImageJ <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, National Institutes of health.
- Reznick, D. (1985). "Costs of Reproduction - an Evaluation of the Empirical-Evidence." Oikos **44**(2): 257-267.
- Reznick, D. (1992). "Measuring the Costs of Reproduction." Trends in Ecology & Evolution **7**(2): 42-45.
- Reznick, D. & J. A. Endler (1982). "The Impact of Predation on Life History Evolution in Trinidadian Guppies (*Poecilia reticulata*)." Evolution **36**(1): 160-177.
- Reznick, D., L. Nunney, et al. (2000). "Big houses, big cars, superfleas and the costs of reproduction." Trends in Ecology & Evolution **15**(10): 421-425.
- Reznick, D., H. Rodd, et al. (2004). Empirical Evidence for Rapid Evolution. Evolutionary Conservation Biology. D. Couvet. Cambridge, Cambridge University Press: 101-118.
- Reznick, D. N. (1997). "Life history evolution in guppies (*Poecilia reticulata*): Guppies as a model for studying the evolutionary biology of aging." Experimental Gerontology **32**(3): 245-258.
- Reznick, D. N., M. J. Butler, et al. (1996). "Life-history evolution in guppies (*Poecilia reticulata*) .6. Differential mortality as a mechanism for natural selection." Evolution **50**(4): 1651-1660.
- Rice, S. H. (2002). "A general population genetic theory for the evolution of developmental interactions." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **99**(24): 15518-15523.
- Ricklefs, R. E. (1998). "Evolutionary theories of aging: Confirmation of a fundamental prediction, with implications for the genetic basis and evolution of life span." American Naturalist **152**(1): 24-44.
- Ricklefs, R. E. & A. Scheuerlein (2001). "Comparison of aging-related mortality among birds and mammals." Experimental Gerontology **36**(4-6): 845-857.
- Ricklefs, R. E., A. Scheuerlein, et al. (2003). "Age-related patterns of fertility in captive populations of birds and mammals." Experimental Gerontology **38**(7): 741-745.
- Rikke, B. A., J. E. Yerg, et al. (2003). "Strain variation in the response of body temperature to dietary restriction." Mechanisms of Ageing and Development **124**(5): 663-678.
- Roff, D. A. (1992). The evolution of life histories: theory and analysis. New York, Chapman & Hall.

- Roff, D. A. (1996). "The Evolution of Genetic Correlations: An Analysis of Patterns." Evolution **50**(4): 1392-1403.
- Roff, D. A. (2000). "Trade-offs between growth and reproduction: An analysis of the quantitative genetic evidence." Journal of Evolutionary Biology **13**(3): 434-445.
- Roff, D. A. (2001). Age and size at maturity. Evolutionary ecology. Concepts and case studies. D. J. Fairbairn. Oxford, Oxford University Press: 424.
- Roff, D. A. (2001). Life History Evolution. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc.
- Rohde, C. J. (1956). "A modification of the plaster-charcoal technique for the rearing of mites and other small arthropods." Ecology **37**: 843-844.
- Ronce, O., J. Clobert, et al. (1998). "Natal dispersal and senescence." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **95**(2): 600-605.
- Roosenburg, W. M. & K. C. Kelley (1996). "The effect of egg size and incubation temperature on growth in the turtle, *Malaclemys terrapin*." Journal of Herpetology **30**(2): 198-204.
- Rose, M. R. (1984). "Laboratory Evolution of Postponed Senescence in *Drosophila-Melanogaster*." Evolution **38**(5): 1004-1010.
- Rose, M. R. (1991). Evolutionary biology of aging. Oxford, Oxford University Press.
- Rose, M. R. & B. Charlesworth (1981). "Genetics of Life-History in *Drosophila-Melanogaster* .1. Sib Analysis of Adult Females." Genetics **97**(1): 172-186.
- Rose, M. R. & B. Charlesworth (1981). "Genetics of Life-History in *Drosophila-Melanogaster* .2. Exploratory Selection Experiments." Genetics **97**(1): 187-196.
- Rose, M. R., L. N. Vu, et al. (1992). "Selection on stress resistance increases longevity in *Drosophila melanogaster*." Experimental gerontology **27**(2): 241-250.
- Rose, R. M., M. S. Warne, et al. (2002). "Some life history responses of the cladoceran *Ceriodaphnia* cf. *dubia* to variations in population density at two different food concentrations." Hydrobiologia **481**(1-3): 157-164.
- Rueffler, C., T. J. M. Van Dooren, et al. (2004). "Adaptive walks on changing landscapes: Levins' approach extended." Theoretical Population Biology **65**(2): 165-178.
- Santo, N., M. Caprioli, et al. (2001). "Egg size and offspring fitness in a bdelloid rotifer." Hydrobiologia **446**: 71-74.
- Scheiner, S. M. (1993). "Genetics and Evolution of Phenotypic Plasticity." Annual Review of Ecology and Systematics **24**: 35-68.
- Scheiner, S. M. & H. S. Callahan (1999). "Measuring Natural Selection on Phenotypic Plasticity." Evolution **53**(6): 1704-1713.
- Scheiner, S. M. & R. F. Lyman (1991). "The genetics of phenotypic plasticity. II. Response to selection." J Evolution Biol **4**(1): 23-50.
- Scheiner, S. M., R. J. Mitchell, et al. (2000). "Using path analysis to measure natural selection." Journal of Evolutionary Biology **13**: 423-433.
- Schneider, J. M. & Y. Lubin (1997). "Does high adult mortality explain semelparity in the spider *Stegodyphus lineatus* (Eresidae)?" Oikos **79**(1): 92-100.
- Schwarzkopf, L., M. W. Blows, et al. (1999). "Life-history consequences of divergent selection on egg size in *Drosophila melanogaster*." American Naturalist **154**: 333-340.
- Service, P. M. & M. R. Rose (1985). "Genetic Covariation Among Life-History Components: The Effect of Novel Environments." Evolution **39**(4): 943-945.
- Sgro, C. M. & L. Partridge (1999). "A delayed wave of death from reproduction in *Drosophila*." Science **286**(5449): 2521-2524.
- Shanley, D. P. & T. B. L. Kirkwood (2000). "Calorie restriction and aging: A life-history analysis." Evolution **54**(3): 740-750.
- Shine, R. & L. Schwarzkopf (1992). "The Evolution of Reproductive Effort in Lizards and Snakes." Evolution **46**(1): 62-75.

- Shine, R., L. Schwarzkopf, et al. (1996). "Energy, risk, and reptilian reproductive effort: A reply to Niewiarowski and Dunham." Evolution **50**(5): 2111-2114.
- Shipley, B. (2000). Cause and correlation in biology, a user's guide to path analysis, structural equations and causal inference. Cambridge, Cambridge University Press.
- Shirley, M. D. F. & R. M. Sibly (1999). "Genetic basis of a between-environment trade-off involving resistance to cadmium in *Drosophila melanogaster*." Evolution **53**(3): 826-836.
- Silbermann, R. & M. Tatar (2000). "Reproductive costs of heat shock protein in transgenic *Drosophila melanogaster*." Evolution **54**(6): 2038-2045.
- Sinervo, B. & A. L. Basolo (1996). Testing adaptation using phenotypic manipulations. Adaptation. M. R. Rose & G. V. Lauder. New York, Academic Press: 149-185.
- Sinervo, B. & P. Doughty (1996). "Interactive effects of offspring size and timing of reproduction on offspring reproduction: Experimental, maternal, and quantitative genetic aspects." Evolution **50**(3): 1314-1327.
- Sinervo, B. & E. Svensson (1998). "Mechanistic and selective causes of life history trade-offs and plasticity." Oikos **83**(3): 432-442.
- Sjursen, H., M. Bayley, et al. (2001). "Enhanced drought tolerance of a soil-dwelling springtail by pre-acclimation to a mild drought stress." Journal of Insect Physiology **47**(9): 1021-1027.
- Smith, C. C. & S. D. Fretwell (1974). "Optimal Balance between Size and Number of Offspring." American Naturalist **108**(962): 499-506.
- Smitherman, R. O., R. A. Dunham, et al. (1996). "Selection, hybridization and genome manipulation in Siluroidei." Aquatic Living Resources **9**: 93-102.
- Snider, R. J. (1973). "Laboratory observations on the biology of *Folsomia candida* (Willem) (Collembola: Isotomidae)." Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol **3**: 103-24.
- Sohal, R. S. & R. Weindruch (1996). "Oxidative stress, caloric restriction, and aging." Science Washington D C **273**(5271): 59-63.
- Solbreck, C., R. Olsson, et al. (1989). "Size, Life-History and Responses to Food Shortage in 2 Geographical Strains of a Seed Bug *Lygaeus-Equestris*." Oikos **55**(3): 387-396.
- Spitze, K. (1991). "Chaoborus Predation and Life-History Evolution in *Daphnia-Pulex* Temporal Pattern of Population Diversity Fitness and Mean Life History." Evolution **45**(1): 82-92.
- Spitze, K. (1995). "Quantitative genetics of zooplankton life histories." Experientia Basel **51**(5): 454-464.
- Spitze, K., J. Burnson, et al. (1991). "The Covariance Structure of Life-History Characters in *Daphnia-Pulex*." Evolution **45**(5): 1081-1090.
- Spudich, J. L. & D. E. Koshland (1976). "Non-Genetic Individuality - Chance in Single Cell." Nature **262**(5568): 467-471.
- Stam, E. M., M. A. Van De Leemkule, et al. (1996). "Trade-offs in the life history and energy budget of the parthenogenetic collembolan *Folsomia candida* (Willem)." Oecologia Berlin **107**(3): 283-292.
- Stearns, S., G. de Jong, et al. (1991). "The Effects of Phenotypic Plasticity on Genetic Correlations." Trends in Ecology & Evolution **6**(4): 122-126.
- Stearns, S. C. (1992). The evolution of life histories. Oxford, Oxford University Press.
- Stearns, S. C., M. Ackermann, et al. (2000). "Experimental evolution of aging, growth, and reproduction in fruitflies." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **97**(7): 3309-3313.
- Stearns, S. C. & J. C. Koella (1986). "The Evolution of Phenotypic Plasticity in Life-History Traits Predictions of Reaction Norms for Age and Size at Maturity." Evolution **40**(5): 893-913.
- Stevenson, I. R. & K. Wilson (2001). "Costs of reproduction: egg production takes its toll." Trends in Ecology & Evolution **16**(10): 539.
- Stewart, L. A., J. L. Hemptinne, et al. (1991). "Reproductive Tactics of Ladybird Beetles - Relationships between Egg Size, Ovariole Number and Developmental Time." Functional Ecology **5**(3): 380-385.

- Svensson, E., B. Sinervo, et al. (2001). "Condition, genotype-by-environment interaction, and correlational selection in lizard life-history morphs." Evolution **55**(10): 2053-2069.
- Tatar, M. (2000). "Transgenic organisms in evolutionary ecology." Trends in Ecology and Evolution **15**(5): 207-211.
- Tatar, M. (2001). Senescence. Evolutionary Ecology, concepts and case studies. D. J. Fairbairn. Oxford, Oxford University Press: 424.
- Tatar, M. & J. R. Carey (1994). "Genetics of Mortality in the Bean Beetle *Callosobruchus maculatus*." Evolution **48**(4): 1371-1376.
- Tatar, M., J. R. Carey, et al. (1993). "Long-Term Cost of Reproduction with and without Accelerated Senescence in *Callosobruchus-Maculatus* - Analysis of Age-Specific Mortality." Evolution **47**(5): 1302-1312.
- Tatar, M., D. W. Gray, et al. (1997). "Altitudinal variation for senescence in *Melanoplus* grasshoppers." Oecologia Berlin **111**(3): 357-364.
- Taylor, B. E. & W. Gabriel (1992). "To Grow or Not to Grow - Optimal Resource-Allocation for *Daphnia*." American Naturalist **139**(2): 248-266.
- Tessier, A. J., M. A. Leibold, et al. (2000). "A fundamental trade-off in resource exploitation by *Daphnia* and consequences to plankton communities." Ecology **81**(3): 826-841.
- Therneau, T. M. & P. M. Grambsch (2000). Modeling survival data. Extending the Cox model. New York, Springer-Verlag.
- Thibaud, J.-M. (1968). "Cycle du tube digestif lors de l'intermue chez les Hypogastruridae (Collembola) épigés et cavernicoles." Revue d'écologie et de biologie du sol **5**: 647-655.
- Thouzard, H. (2003). The rename <http://www.herve-thouzard.com/therename.phtml>.
- Usher, M. B. (1969). "Some properties of aggregations of soil arthropods - Collembola." Journal of Animal Ecology **38**(3): 607-&.
- Usher, M. B. & M. Hider (1975). "Studies on populations of *Folsomia candida* (Insecta Collembola) - Causes of aggregations." Pedobiologia **15**(4): 276-283.
- Usher, M. B. & C. F. Stoneman (1977). "*Folsomia candida* - an ideal organism for population studies in the laboratory." Journal of Biological Education **11**: 83-90.
- Valenzuela, N. (2001). "Maternal effects on life-history traits in the Amazonian giant river turtle *Podocnemis expansa*." Journal of Herpetology **35**(3): 368-378.
- van Noordwijk, A. J. & G. de Jong (1986). "Acquisition and Allocation of Resources: Their Influence on Variation in Life History Tactics." American Naturalist **128**(1): 137-142.
- Van Noordwijk, A. J., J. H. Van Balen, et al. (1988). "Heritability of Body Size in a Natural-Population of the Great Tit (*Parus-Major*) and Its Relation to Age and Environmental- Conditions During Growth." Genetical Research **51**(2): 149-162.
- Van Straalen, N. M. (1985). "Size-Specific Mortality Patterns in Two Species of Forest Floor Collembola." Oecologia Berlin **67**(2): 220-223.
- Vanamelsvoort, P. A. M. & M. B. Usher (1989). "Egg-production related to food quality in *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) - Effects on life-history strategies." Pedobiologia **33**(1): 61-66.
- Vandekerckhove, T. T. M., S. Watteyne, et al. "Wolbachia-induced thelytoky in the springtail *Folsomia candida* (Hexapoda, Collembola)." 35-36.
- Vannier, G. & G. Kilbertus (1984). "Colonization Pattern of 2 Saprophagous Insect Species in a Decaying Tree Log." Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol **21**(3): 329-346.
- Vannier, G. & B. Verdier (1981). "Critères écophysiologiques (transpiration, respiration) permettant de séparer une espèce souterraine d'une espèce de surface chez les Insectes Collembola." Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol **18**: 531-549.
- Vaupel, J. W., J. R. Carey, et al. (1998). "Biodemographic Trajectories of Longevity." Science **280**(5365): 855-860.

- Verhoef, H. A. & C. J. Nagelkerke (1977). "Formation and ecological significance of aggregations in Collembola - experimental-study." Oecologia **31**(2): 215-226.
- Verhoef, H. A., C. J. Nagelkerke, et al. (1977). "Aggregation pheromones in Collembola." Journal of Insect Physiology **23**(8): 1009-1013.
- Via, S. & R. Lande (1985). "Genotype-Environment Interaction and the Evolution of Phenotypic Plasticity." Evolution **39**(3): 505-522.
- Visser, M. E. & C. M. Lessells (2001). "The costs of egg production and incubation in great tits (*Parus major*)." Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences **268**(1473): 1271-1277.
- Walker, S. E., A. L. Rypstra, et al. (2003). "The relationship between offspring size and performance in the wolf spider *Hogna helluo* (Araneae : Lycosidae)." Evolutionary Ecology Research **5**(1): 19-28.
- Wallace, J. C. & D. Aasjord (1984). "An Investigation of the Consequences of Egg Size for the Culture of Arctic Charr, *Salvelinus-Alpinus* (L)." Journal of Fish Biology **24**(4): 427-435.
- Walsh, M. I. & T. Bolger (1990). "Effects of Diet on the Growth and Reproduction of Some Collembola in Laboratory Cultures." Pedobiologia **34**(3): 161-171.
- Weindruch, R., T. Kayo, et al. (2002). "Gene expression profiling of aging using DNA microarrays." Mechanisms of Ageing and Development **123**(2-3): 177-193.
- Wilbur, H. M. & J. P. Collins (1973). "Ecological Aspects of Amphibian Metamorphosis." Science **182**(4119): 1305-1314.
- Williams, G. C. (1957). "Pleiotropy, Natural-Selection, and the Evolution of Senescence." Evolution **11**(4): 398-411.
- Williams, G. C. (1966). "Natural Selection, the Costs of Reproduction, and a Refinement of Lack's Principle." American Naturalist **100**(916): 687-690.
- Winkler, D. W. & K. Wallin (1987). "Offspring Size and Number: A Life History Model Linking Effort Per Offspring and Total Effort." American Naturalist **129**(5): 708-720.
- Woltereck, R. (1909). "Weitere experimentelle Untersuchungen über Artveränderung, speziell über das Wesen quantitativer Artunterschiede bei Daphniden." Verhandl. d. Deutsch. Zool. Gesellschaft: 110-173.
- Yang, Y. & D. L. Wilson (2000). "Isolating aging mutants: A novel method yields three strains of the nematode *Caenorhabditis elegans* with extended life spans." Mechanisms of Ageing and Development **113**(2): 101-116.
- Zar, J. H. (1999). Biostatistical Analysis. New Jersey, Pentice Hall.
- Zinkler, D. & J. Platthaus (1996). "Tolerance of soil-dwelling Collembola to high carbon dioxide concentrations." European Journal of Entomology **93**(3): 443-450.
- Zwaan, B., R. Bijlsma, et al. (1995). "Direct Selection on Life-Span in *Drosophila-Melanogaster*." Evolution **49**(4): 649-659.

A / Parent-offspring competition and natal dispersal at several spatial scales in the great tit, *Parus major* (Article soumis à *Journal of animal ecology*)

Thomas Tully*, Jean Clobert*, Robin McCleery#, Christopher Perrins#

Affiliations

- * Laboratoire Fonctionnement et Évolution des Systèmes Écologiques
Université Pierre et Marie Curie
7 quai Saint Bernard
Bâtiment A, 7ème étage
75230 Paris Cedex 05
France
- # Edward Grey Institute of Field Ornithology
Department of Zoology
South Parks Road
Oxford OX1 3PS
United Kingdom

E-mail addresses

tully@ens.fr
jclobert@snv.jussieu.fr
robin.mccleery@zoology.oxford.ac.uk
chris.perrins@zoology.oxford.ac.uk

Short running title: Kin competition and natal dispersal in the great tit

Keywords : Kin competition, maternal effects, senescence, spatial heterogeneity, Wytham Wood.

Type of article : Report

Number of words : Abstract : 233; from introduction to conclusion: 4601, legends: 447 ; total : 6873, 53 references, 20 pages, 3 figures & 2 tables

Corresponding author:

Thomas Tully
Laboratoire d'Écologie
École Normale Supérieure
46 rue d'Ulm
75230 Paris CEDEX 05
Phone: (33) 1 44 32 38 84
Fax: (33) 1 44 32 38 85
E-mail : tully@ens.fr

Abstract

- (1) Models predict that kin competition is sufficient to promote high levels of natal dispersal. One would therefore expect living organisms to alter their dispersal behaviour in response to a modification of the intensity of competition between kin. In species that undergo aging, natal dispersal is expected to decrease as the parents become older. This is because competition between parents and offspring decreases owing to higher parent mortality.
- (2) Moreover, the pattern of response to the parents' condition is expected to vary between gender as the result of asymmetrical parent-offspring competition between sons, daughters, fathers and mothers.
- (3) We have tested these predictions by studying natal dispersal behaviour in the great tit population of Wytham Wood (Oxfordshire). We show that all types of adult great tit, whether resident or immigrant and whatever their reproductive effort, suffer from a decrease in survival probability after four years of age.
- (4) Natal dispersal was studied over three spatial scales, both inside and outside the wood. The father's age had no effect on the dispersal behaviour of young tits. Young females were found to disperse less often when their mother was old. This suggests that competition between mothers and daughters can promote dispersal in this species. The dispersal of young males, however, is either independent of the mother's age or responds in the opposite way to that of their sisters. This may indicate an avoidance of inbreeding.

Introduction

In many organisms the movement from one breeding or birth site to another occurs primarily at the juvenile stage, and is then known as natal dispersal (Greenwood, 1980). Several factors have been proposed to explain patterns of natal dispersal in animals (Clobert et al., 2001; Dobson & Jones, 1985; Perrin & Goudet, 2001). In particular, theoretical studies show that natal dispersal should evolve as a means of coping with habitat instability (e.g. Denno et al., 1991), of avoiding the risks of intra- and interspecific competition (Lambin et al., 2001) or of reducing the costs of inbreeding depression (Cockburn et al., 1985). Local interactions between parents and offspring, or among siblings, have recently been proposed as one of the most important causes of natal dispersal (Gandon & Michalakis, 1999; Perrin & Goudet, 2001). Local interactions between kin can be beneficial (kin cooperation) and therefore promote philopatry. This phenomenon has been highlighted in the literature as the “benefits of philopatry” hypothesis in social birds, and has been used to explain patterns of natal recruitment in cooperatively breeding vertebrates (Baglione et al., 2003; Sinervo & Clobert, 2003). But kin interactions can be detrimental and promote dispersal as a way of avoiding kin competition (Lambin *et al.* 2001). As early as 1977, Hamilton and May showed that kin competition is sufficient to promote natal dispersal even in a stable environment and with high cost of dispersal.

Although empirical evidence is still scarce, there are some observations which seem to support these ideas. First, parents may actively expel their offspring, although this may be rare (e.g. Strickland, 1991). Second, positive correlation between litter size and natal dispersal suggest that sibling competition is having an effect (Jacquot & Vessey, 1995; Ribble, 1992). Third, several studies in microtine rodents and in the common lizard *Lacerta vivipara* Jacquin (e.g. Bollinger et al., 1993; Gundersen & Andreassen, 1998; Le Galliard et al., 2003) provide evidence for the avoidance of mother-daughter competition through delayed maturation and natal dispersal. However, until now studies have been unable to compare the effects of mother- and father-offspring competition on natal dispersal because they have been carried out using promiscuous, polygynous species (Lambin et al., 2001). Furthermore, natal dispersal has only been investigated over a small spatial scale, following the theoretical expectation that interactions among relatives are more likely to affect local than long-distance dispersal (Ronce et al., 2001).

The aim of the present study is to find out whether risks of competition between parents and their offspring can affect natal dispersal of a territorial, monogamous passerine bird, the great tit (*Parus major* L.) on several spatial scales.

To investigate patterns of competition between parents and offspring, we use the framework introduced by Ronce *et al.* (1998): in a stable habitat, optimal dispersal strategies should covary with parents' age when parent-offspring competition is involved and parental survival is age-dependent. Specifically, evolutionarily stable dispersal probabilities decrease with parental age when senescence occurs, whether dispersal is under parental or offspring control. When parents become older, the average competitive intensity between them and their offspring decreases, and therefore the costs of philopatry weaken. We have used Wytham Wood data to investigate patterns of aging and relationships between aging and natal dispersal at three spatial scales: (1) locally between adjacent territories (mostly within the same type of habitat), (2) between adjacent habitats within the wood, (3) from within to outside the wood.

Wytham Wood habitats can be considered as stable because (1) changes in the vegetation are slow compared to the life span of a great tit, (2) the quantity of holes available for reproduction is stable, (3) yearly climatic fluctuations affect tit populations only at large spatial scales (Perrins, 1965). Intraspecific competition has been documented in this species. Males are usually dominant over females and old individuals are dominant over young ones (Gosler, 1993). During the breeding season birds must acquire and defend an exclusive breeding territory in order to reproduce (Krebs, 1971). Adult great tits are faithful to their first reproductive territory (Harvey *et al.*, 1979) and adult dispersal is rare, occurring primarily during the first year of life (Greenwood *et al.*, 1979). Young birds usually disperse only a few hundred meters, which means that interactions among parents and offspring are likely to occur after short-distance settlement (Delestrade *et al.*, 1996). Finally, age-dependent life history has already been documented in several great tit populations. In a Belgian population, tits older than four were found to have smaller breeding territories, to lay smaller clutches, and to survive less well after the age of five (Dhondt, 1989). In Wytham Wood adult survival rates decrease after the age of five, mainly during a period of low nest predation where reproductive effort is higher (McCleery *et al.*, 1996). Therefore conditions seem to be met for documenting the existence of a relationship between natal dispersal and parent age as an outcome of kin competition.

Material and methods

○ Study site and model species

Between 1964 and 1999, 46 000 chick and adult great tits were banded in the 390 ha of mixed deciduous woodland that form Wytham Wood (Oxfordshire, UK). 980 nest boxes have been maintained in 8 different main areas since 1963. Perrins (1979) gives details of the follow up and data collection methods.

○ Patterns of aging

Since aging affects survival in a complex manner, depending on gender, resident status and reproductive effort (McCleery *et al.*, 1996), our analysis takes account of all of these. First of all, aging may depend on *gender*, which can only be determined at or after age one when birds are recaptured as breeders. Second, survival differs between birds that are born within the wood (*residents*) and those that come in from outside (*immigrants*) (Clobert *et al.*, 1988; Verhulst & Van Eck, 1996). Because the age of adults older than one can not be determined precisely, the age of immigrant birds was only determined for those which started to reproduce and were caught as first-time breeders at the age of one. Third, McCleery *et al.* (1996) showed that early reproductive effort - skipping or not skipping the first year of reproduction - influences age-dependent survival patterns, with early reproductive effort negatively affecting survival of older females. Although a large proportion of great tits succeed in rearing chicks during their first year (*no skip* class), some of them do not (*skip* class), either because they start to reproduce at later ages, or because they fail to fledge their young.

In order to investigate patterns of survival in these different classes, the individual capture-recapture histories of 7137 adult breeding tits in Wytham Wood were analysed with a Cormack-Jolly-Seber model using the software MARK (White, 2002). This model can be used to estimate capture and local survival probabilities independently (see Clobert *et al.*, 1987). We modelled the linear effects of *time*, *age*, *gender*, *immigration status*, *early reproductive effort* and interactions between these factors on *survival* and *capture* probability (Lebreton *et al.*, 1992). The model selection methodology consists of building a general model and constraining it step by step. The Akaike information criteria (AIC) was used to find the most parsimonious model in a specified set. Model selection was based on corrected AIC (QAIC) in order to adjust for a potential lack of fit (overdispersion). The effects of the linear factors on survival and capture probability were tested by comparing couple of nested models using log likelihood ratio tests. Significant effects of age on survival were used to classify several groups of breeding adults with respect to the intensity of displayed senescence. The estimates of local survival probability and their confidence intervals are obtained by the maximum likelihood method.

○ Natal dispersal

Dispersal movements inside the wood were measured by the linear distance between the nest box of birth and the nest box of first reproduction. Because of the irregular shape of the wood (Perrins, 1965), we did not analysed this strait-line distance directly nor the shape of the dispersal kernel in order to avoid biases that would follow from this irregularity. Dispersal was regarded instead as being discontinuous and in our analysis we considered the probability of dispersal rather than dispersal distance.

It has been suggested that different causes of dispersal can operate at different spatial scales (Ronce *et al.*, 2001). For example, social factors operate over a small spatial scale whereas habitat or environmental factors are thought to act over a larger scale. However, Clobert *et al.* (2003) question this classification and suggest that it should vary with the life history of the species. Dispersal distance itself can evolve (Rousset & Gandon, 2002). If the cost of dispersal increases with distance, then short-distance dispersal movements are favoured (Murrell *et al.*, 2002). Larger movements are possible when the cost of dispersal is not associated with distance (Townsend *et al.*, 2003) or when local complex dynamics are present (Nuernberger, 1996). To account for this variability with distance, we defined dispersal at three spatial scales.

(1) To classify individuals as philopatric or dispersers on the basis of the length of their dispersal movement, one needs to fix a threshold distance, the individuals that move farther than this distance being considered as dispersers whereas the others are regarded as philopatric. Several methods have been proposed to define such a threshold but most of them are somewhat subjective (Massot *et al.*, 2003). Moreover, because movement of dispersers and philopatric individuals usually overlap, the use of any single distance threshold to classify individuals as disperser or philopatric will misclassify many individuals. In order to overcome these problems, it has been suggested (Clobert *et al.*, 1994; Massot & Clobert, 2000) that birds which are difficult to classify, because they only move intermediate distances, should be discarded. In order to do that, we used a method designed by Massot *et al.* (2003). Analogous to a correlogram, this method searches for two distance limits, birds dispersing below the lower limit being considered as philopatric and birds moving further than the upper limit being considered as dispersant, individuals dispersing between the two limits being discarded from the analysis (Fig. 1). The analysis consists of varying the lower limit from a distance of 0, 50, 100, 150 m up to 2500 m and the upper limit from the lower limit up to a distance of 3000 meters by units of 50 meters. Then the optimal pair of threshold is search on the well known basis that, in this species, sexes differ in their dispersal movement (Greenwood *et al.*, 1979). One explanation for this sex biased dispersal is avoidance of inbreeding between brothers and sisters and of competition between kin (Greenwood *et al.*, 1978; Johnson & Gaines, 1990; Lambin *et al.*, 2001; Motro, 1991). The effect of sex on dispersal behaviour is addressed with a logistic regression where dispersal behaviour defined by the two thresholds depends on the tit's gender. The Fig. 1 represents the Chi-square value of the effect of gender for each pair of thresholds. The pair for which this value is maximal is the one that

fits the expected pattern of sex-biased dispersal more closely and was conserved for defining dispersing and philopatric individuals, and discarding the ambiguous individuals in the subsequent analysis.

(2) The wood is divided into eight areas differing by their vegetation (age and type) and their forest management rules (Delestrade et al., 1996). Following Wiens (2001), we define tits that reproduce in their natal area as habitat philopatric whereas those leaving it are defined as habitat dispersers.

(3) Finally, long-distance dispersal outside the wood has also been considered. Because direct information on such long distance movements is very scarce (Verhulst et al., 1997), we have used indirect demographic estimates of recruitment rates in nestlings. Mark-recapture histories were used to estimate the local juvenile survival probability (Lebreton et al., 1992), which is the probability of a bird staying alive and reproducing in the wood. Any variation of this reflects a variation of the mortality and/or emigration rate and therefore might reflect variations in natal dispersal outside the wood, although it is not possible to rigorously separate these two causes.

Natal dispersal was analysed using: 1) the *offspring gender* (male or female), 2) the *mother's* and *father's age* (classified as old or young), and 3) a combined classification using the *parent status* (immigrant or resident) and *reproductive effort* (skip or no skip), where the classes are defined in Table 1. These 6 classes differ in the pattern and intensity of aging, see Fig. 2.

In the first two spatial scales, dispersal was modelled with a generalised linear mixed model (binomial variable, logit link function, penalized quasi-likelihood), family effects being taken into account by including *clutch code* as a random effect using the *GLMM* function from the *lme4* package of R1.8 statistical software (Ihaka & Gentleman, 1996). Complex models were simplified by sequential backward selection. In the third spatial scale of dispersal, we used the same model selection method as the one used for studying patterns of aging described above. Gender was randomly attributed with equal probability to the chicks that had not been recaptured as adults (>40 000) and therefore that had not been sexed. Offspring were categorized according to the parents' ages. For both survival and capture probabilities, the starting model takes into account the effects of *time*, *gender* and *age* (from birth to first year and older) and their interactions.

○ Spatial structure

Our hypothesis relies on the idea that age is an indicator of a parent's health, and not of the suitability of the surrounding habitats nor of the mean age of individuals living in the neighbourhood. Indeed, a bird's age might be correlated to the age or suitability of the habitat, and therefore be a clue of the quality of the habitat rather than female age *per se*. The tits are living in a wood which is mature or close to maturity such that the time needed for a significant change in the habitat is much greater than the life span of a tit. In the same way, the age of a bird might be correlated to the age of its neighbours, indicating a likely decrease in intraspecific competition in addition to mother-daughter competition. We have controlled for any such spatial association by searching (1) for any groups of old tits in the wood and (2) for any spatial structure of old tits in the different parts of the wood. Controls (1) and (2) were performed by comparing the proportion of old tits in the different areas of the wood, every year or for the complete duration of the study. The proportions were analysed through a logistic regression (*glm*, from R1.8 statistical software).

Results

○ Patterns of aging:

Because of model complexity, it was not possible to have both survival and capture rates dependent on time, age and groups of individuals (Table 1) all together. We therefore assumed survival to be time independent and capture probability was composed of an additive effect of *gender* and *time* (gender: $\chi^2_1=36.8$, $P<0.0001$, time: $\chi^2_{33}=162$, $P<0.0001$; status & reproductive effort: $\chi^2_4=0.45$, $P=0.98$). This is in accordance with the previous results that males are harder to catch than females (Clobert et al.,

1988) and that neither status nor reproductive effort affect the capture probability (McCleery et al., 1996). Survival significantly decreases after the age of four ($\chi^2_1=36.7$, $P<0.0001$) in every class except for resident males that skipped their first year of reproduction, where the decrease in survival started at age four (Fig. 2, DeltaQAIC=10.19). The size of the fall in survival was significantly larger for resident females that started to reproduce at age one (*no skip*) compared to the other groups where the aging pattern was similar ($\chi^2_1=6.03$, $P=0.014$).

For each group of adult tits, two classes of individuals (young and old) were defined according to the described pattern of aging (Fig. 2) and were used for analysing the effect of the parents' age on natal dispersal. A stronger age-dependency is expected in the group with the more pronounced senescence, i.e. in offspring sired by resident mothers that started to reproduce at age one.

○ Relationship between parental condition and their environment

We found no significant spatial association of old birds in the different areas of the wood ($\chi^2_{245}=214$, $P=0.92$). Nevertheless, when studying the repartition of the tits in the different areas during the 35 years of the study, we found that the proportion of old tits differs between areas ($\chi^2_9=17.6$, $P=0.039$). This spatial structure is in fact only due to one area that differs from the others (area "W"). Therefore, in order to avoid any confounded effect between space and parental condition, we have discarded from the analysis of short-distance and between-habitats dispersal those tits that hatched in this particular area ($n=547$).

○ Relationship between offspring dispersal, parental status, and parental aging

Short-distance dispersal

Following the correlogram analysis (Fig. 1), we defined two critical boundaries: under 500 m young tits were classified as philopatric ($n=1572$) and over 900 m as dispersers ($n=1590$). The 1192 birds that dispersed between these boundaries were removed from the analysis.

Dispersal is not affected by paternal age ($Z=0.10$, $P=0.92$) but tends to be influenced by an interaction between offspring gender and mother's age ($Z=1.81$, $P=0.07$): young females tend to disperse less when their mother is old ($Z=1.76$, $P=0.077$) whereas young males do not adjust their dispersal behaviour in response to their mother's age ($Z=0.72$, $P=0.47$, Table 2 & Fig. 3A).

Between-habitats dispersal

Natal dispersal between areas in the wood is not affected by the father's age ($Z=0.13$, $P=0.89$) but again depends on an interaction between the mother's age and offspring gender ($Z=2.34$, $P=0.019$): young females tend to leave their natal area less when their mother is old ($Z=1.89$, $P=0.058$) whereas young males are not affected by their mother's age ($Z=1.23$, $P=0.22$, Table 2 & Fig. 3B).

We found similar results when taking into account the young tits born in the parcel "W" in both the short-distance and between-habitats dispersal analysis.

Long-distance dispersal

Model comparison shows that the proportion of juveniles sired by old males that survived in the wood was lower than those sired by young males. This is true whether the offspring are males ($\chi^2_1=5.31$, $P=0.02$, -15%) or females ($\chi^2_1=20.15$, $P=0.0001$, -17%).

Local survival of juvenile males sired by old mothers did not differ from that of males sired by young mothers whether the mother skipped ($\chi^2_1=0.008$, $P=0.93$) or not its first reproduction ($\chi^2_1=0.034$, $P=0.85$). The age of mothers that started to reproduce at age two (*skip*) does not affect the survival of their daughters ($\chi^2_1=0.34$, $P=0.56$) whereas the age of a mother that started to reproduce at age one (*no skip*) marginally does ($\chi^2_1=2.81$, $P=0.09$). Although this effect is only marginally significant, the model that included this effect was the best one according to its QAICc (DeltaAICc=0.79). As was

expected, in this model, offspring females sired by old *no skip* mothers have a higher mean local survival (+40%) compared to the other juvenile females.

Discussion

In spite of the great size of the original data set, the number of great tits reaching an old age is small, and consequently most of our analyses are not very powerful. Moreover, in the short-distance and between-habitats dispersal analysis, a significant part of the data was removed from the analysis ("W" area: 12%; correlogram approach: 27%) and in the study of local juvenile survival (dispersal outside the wood), the predicted increase of philopatry for offspring with old parents had to be large enough to counterbalance the likely decrease of survival due to the parents being old (Dhondt 1989). It is remarkable that in spite of these difficulties we found parental age to have an effect: 1) on adult survival probabilities according to their status and reproductive effort, and 2) on the juvenile dispersal. This later effect is manifest at the between-habitats spatial scale and is supported by two tendencies at the short-distance and long-distance dispersal scales that are similar in the direction of responses observed. These responses are consistent with what is predicted from kin competition theory based on the age-specific survival pattern of the adult parent (Hamilton & May, 1977; Ronce et al., 1998).

○ Aging patterns

In accordance with McCleery *et al.* (1996), we found that a drop in survival of the Wytham great tits occurs after five years of age. Even though earlier studies on the same population highlighted aging in some categories of females (those recruited at age one), we were able to provide a deeper analysis of this phenomenon because of both the strategy of analysis used and the increased quantity of data available. With this new set of analyses we found (1) aging patterns in every class of tit studied and (2) quantitative differences between these patterns related to early reproductive effort and status of the birds.

Females that succeeded in breeding during their first year had a higher mortality late in life compared to those that recruited later. This pattern can be interpreted as the result of a trade-off between early reproductive effort and late survival (Abrams, 1991), previously documented in other species of birds (Gustafsson & Pärt, 1990; McDonald et al., 1996; Orell & Belda, 2002).

In contrast to females, aging started one year earlier for males that did not breed successfully at age one compared to those which did, suggesting that for males poor quality leads to a late start to reproduction and an earlier death. The factors which favour prolonged survival seem to differ between genders in this population of great tits.

Finally, in spite of early recruitment, late survival of immigrant females was higher than that of residents with the same age. Because we were not able to compare immigrant females that skipped their first year of reproduction with those which did not, the above finding could be the result of 1) a difference in intrinsic quality between resident and immigrant females, or 2) a different position on the survival-reproduction trade-off for the two types of females, since immigrant females have been shown to fledge fewer young than resident females (Verhulst & Van Eck, 1996).

○ Dispersal as a response to parents' age

The relationship between natal dispersal and parental age has been studied at three different spatial scales.

Father's age and status

The father's age did not affect natal dispersal of the young when dispersal was measured within the wood (on short-distance and between-habitats). At a larger spatial scale, we found that local survival of both male and female offspring decreased (-15%) when their father became old. This result, which is in contradiction with our initial hypothesis, is congruent with the fact that we have not previously found the father's age to have any effect on natal dispersal of its offspring. This decrease in local

juvenile survival for both sexes can result from old males producing less philopatric offspring. But it is more likely to be caused by old males rearing weaker offspring which have a higher mortality rate, a fact that has already been reported for this species (Dhondt, 1989).

Mother's age and status

At within the wood level (between-habitats dispersal), the response to a mother's age differs between young males and females. The pattern of this effect – young females tend to disperse less often when survival of their mothers decreases – is predicted by the action of competition between parents and offspring. At the short-distance dispersal scale, a similar but not significant interaction is observed. These results imply the existence of competition between mothers and daughters in this species and might underpin many dispersal decisions made by offspring. Young females seem therefore to be able to adjust their dispersal behaviour when the status of their mother is such that the probability that they compete with her in the future will be low. On the contrary, male natal dispersal does not seem to be affected by competition with the parents, and the interaction between juvenile sex and female age might even reflect an avoidance of inbreeding with their philopatric sisters.

Kin competition and the spatial scale

Juvenile local survival was higher for the daughters of old non skipping mothers than for other females. This pattern could result from a difference in true survival: old females producing female offspring that survive longer than those with young mothers. This interpretation is not very convincing because it has been reported that young birds sired by old tits have a decreased post-fledging survival (Dhondt, 1989). The alternative is therefore that the difference in local survival reflects a difference in local fidelity. The likely interpretation is again that old females produce philopatric daughters in higher proportion than young females. It is interesting to note that this pattern was only found for the class of female which displayed the strongest decrease in survival with age (the non skipping resident females). And again, no effect of a mother's age on the local survival of her sons was found. These results can be interpreted in two ways. First, old females could produce – as a consequence of their old age – low quality female offspring that are less likely to disperse. However, this would imply that the quality of young females, but not of young males, is affected by their mother's condition, and that it is only the ability to disperse, and not the ability to survive, that is affected by the old mother's condition. Second, if our interpretation in terms of mother-daughter competition is correct, then this result indicates that a dispersal movement induced by kin competition is not limited to the scale at which social interactions occur (a few territories), but may motivate individuals to move to another habitat, or even to leave the wood for a long dispersal movement. In this case, dispersal motivated by kin competition can be of importance even at large spatial scales as suggested by Clobert *et al.* (2004).

Conclusion

Juvenile females tend to disperse less often when their mothers are old. The similarity in the patterns of results found at different spatial scales supports this. It is especially true for resident females which were successfully reproducing during their entire life as would have been predicted by theory (Hamilton & May, 1977; Ronce *et al.*, 1998). A mother-daughter competition is therefore likely to influence juvenile dispersal in the great tit. Father-daughter or father-son competition does not seem to affect offspring dispersal. Son and daughter dispersal depend differently on the mother's age. This might mean that the dispersal of young males is dependent on the dispersal behaviour of their sisters and could be a way of avoiding inbreeding with them.

Two independent studies (Le Galliard *et al.*, 2003; Ronce *et al.*, 1998) show that similar results occur for another species, namely the common lizard (*Lacerta vivipara*). Ronce *et al.* (1998) find that female natal dispersal decreases when the mother is old and senescent, whereas the dispersal rate of male offspring is not related to the mother's age. Le Galliard *et al.* (2003) have demonstrated experimentally that mother-offspring competition does indeed drive female offspring dispersal while, in the presence

of the mother, male offspring tend to disperse less, a response that is very similar to the one we have observed here.

To assess the importance of kin interactions in the evolution of dispersal, one needs to study the relationship between natal dispersal and parental age in many more species and social organisations. However, correlations are not sufficient to demonstrate that senescence is the real cause of the relationship between natal dispersal and parental age, especially because we know that most of the time dispersal has a multi-determinism (Gandon & Michalakis, 2001; Lambin et al., 2001). Experimentation remains the most appropriate way of disentangling and quantifying separately the factors that can affect natal dispersal behaviour.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge Jean-François Le Galliard and Manuel Massot for their advice and comments on this work.

Bibliography

- Abrams, P.A. (1991) The fitness costs of senescence: the evolutionary importance of events in early adult life. *Evolutionary Ecology*, 5, 343-360.
- Baglione, V., Canestrari, D., Marcos, J.M., & Ekman, J. (2003) Kin selection in cooperative alliances of carrion crows. *Science*, 300, 1947-1949.
- Bollinger, E.K., Harper, S.J., & Barrett, G.W. (1993) Inbreeding avoidance increases dispersal movements of the meadow vole. *Ecology*, 74, 1153-1156.
- Clobert, J., Danchin, E., Dhondt, A.A., & Nichols, J.D., eds. (2001) *Dispersal*, pp 452. Oxford University Press, Oxford.
- Clobert, J., Ims, R., & Rousset, F. (2004). Causes, mechanisms and consequences of dispersal. In *Ecology, Genetics and Evolution of Metapopulations* (eds Hanski & Gaggiotti). Academic Press, San Diego.
- Clobert, J., Lebreton, J.D., & Allaine, D. (1987) A general approach to survival rate estimation by recaptures or resightings of marked birds. *Ardea*, 75, 133-142.
- Clobert, J., Massot, M., Lecomte, J., Sorci, G., de Fraipont, M., & Barbault, R. (1994). Determinant of dispersal behavior: the common lizard as a case study. In *Lizard ecology: historical and experimental perspectives* (eds L. Vitt & R. Pianka), pp. 183-206. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Clobert, J., Perrins, C.M., McCleery, R.H., & Gosler, A.G. (1988) Survival rate in the great tit *Parus major* in relation to sex, age, and immigration status. *Journal of Animal Ecology*, 57, 287-306.
- Cockburn, A., Scott, M.P., & Scotts, D.J. (1985) Inbreeding avoidance and male-biased natal dispersal in *Antechinus* spp Marsupialia Dasyuridae. *Animal Behavior*, 33, 908-915.
- Delestrade, A., McCleery, R.H., & Perrins, C.M. (1996) Natal dispersal in a heterogeneous environment: The case of the Great Tit in Wytham. *Acta Oecologica*, 17, 519-529.
- Denno, R.F., Roderick, G.K., Olmstead, K.L., & Dobel, H.G. (1991) Density-related migration in planthoppers (Homoptera, Delphacidae) - the role of habitat persistence. *The American Naturalist*, 138, 1513-1541.
- Dhondt, A.A. (1989) The effect of old-age on the reproduction of great tits *Parus major* and blue tits *Parus caeruleus*. *Ibis*, 131, 268-280.
- Dobson, F.S. & Jones, W.T. (1985) Multiple causes of dispersal. *The American Naturalist*, 126, 855-858.
- Gandon, S. & Michalakis, Y. (1999) Evolutionarily stable dispersal rate in a metapopulation with extinctions and kin competition. *Journal of Theoretical Biology*, 199, 275-290.
- Gandon, S. & Michalakis, Y. (2001). Multiples causes of the evolution of dispersal. In *Dispersal* (eds J. Clobert, E. Danchin, A.A. Dhondt & J.D. Nichols), pp. 452. Oxford University Press, Oxford.
- Gosler, A. (1993) *The great tit* Paul Hamlyn Ltd., London.
- Greenwood, P.H. (1980) Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour*, 28, 1140-1162.
- Greenwood, P.J., Harvey, P.H., & Perrins, C.M. (1978) Inbreeding and dispersal in the great tit. *Nature*, 271, 52-54.
- Greenwood, P.J., Harvey, P.H., & Perrins, C.M. (1979) Role of dispersal in the great tit (*Parus major*) - causes, consequences and heritability of natal dispersal. *Journal of Animal Ecology*, 48, 123-142.
- Gundersen, G. & Andreassen, H.P. (1998) Causes and consequences of natal dispersal in root voles, *Microtus oeconomus*. *Animal Behaviour*, 56, 1355-1366.

- Gustafsson, L. & Pärt, T. (1990) Acceleration of senescence in the collared flycatcher *Ficedula albicollis* by reproductive costs. *Nature*, 347, 279-281.
- Hamilton, W.D. & May, R.M. (1977) Dispersal in stable habitats. *Nature*, 269, 578-581.
- Harvey, P.H., Greenwood, P.J., & Perrins, C.M. (1979) Breeding area fidelity of great tits (*Parus major*). *Journal of Animal Ecology*, 48, 305-313.
- Ihaka, R. & Gentleman, R. (1996) R: A language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 5, 299-314.
- Jacquot, J.J. & Vessey, S.H. (1995) Influence of the natal environment on dispersal of white-footed mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 37, 407.
- Johnson, M.L. & Gaines, M.S. (1990) Evolution of dispersal: theoretical models and empirical tests using birds and mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 449-480.
- Krebs, J.R. (1971) Territory and breeding density in the great tit, *Parus major* L. *Ecology*, 52, 2-22.
- Lambin, X., Aars, J., & Pieltney, S.B. (2001). Dispersal, intraspecific competition, kin competition and kin facilitation: a review of the empirical evidence. In *Dispersal* (eds J. Clobert, E. Danchin, A.A. Dhondt & J.D. Nichols), pp. 452. Oxford University Press, Oxford.
- Le Galliard, J.-F., Ferrière, R., & Clobert, J. (2003) Mother-offspring interactions affect natal dispersal in a lizard. *Proceeding of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, 270, 1163-1169.
- Lebreton, J.D., Burnham, K.P., Clobert, J., & Anderson, D.D. (1992) Modelling and testing biological hypotheses using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecological Monographs*, 61, 67-118.
- Massot, M. & Clobert, J. (2000) Processes at the origin of similarities in dispersal behaviour among siblings. *Journal of Evolutionary Biology*, 13, 707-719.
- Massot, M., Huey, R., Tsuji, J., & Van Berkum, F. (2003) Genetic, prenatal, and postnatal correlates of dispersal in hatchling fence lizards (*Sceloporus occidentalis*). *Behavioral Ecology*, 14, 650-655.
- McCleery, R.H., Clobert, J., Julliard, R., & Perrins, C.M. (1996) Nest predation and delayed cost of reproduction in the great tit. *Journal of Animal Ecology*, 65, 96-104.
- McDonald, D.B., Fitzpatrick, J.W., & Woolfenden, G.E. (1996) Actuarial senescence and demographic heterogeneity in the Florida scrub jay. *Ecology*, 77, 2373-2381.
- Motro, U. (1991) Avoiding inbreeding and sibling competition the evolution of sexual dimorphism for dispersal. *The American Naturalist*, 137, 108-115.
- Murrell, D.J., Travis, J.M.J., & Dytham, C. (2002) The evolution of dispersal distance in spatially-structured populations. *Oikos*, 97, 229-236.
- Nuernberger, B. (1996) Local dynamics and dispersal in a structured population of the whirligig beetle *Dineutus assimilis*. *Oecologia Berlin*, 106, 325-336.
- Orell, M. & Belda, E.J. (2002) Delayed cost of reproduction and senescence in the willow tit *Parus montanus*. *Journal of Animal Ecology*, 71, 55-64.
- Perrin, N. & Goudet, J. (2001). Inbreeding, kinship and the evolution of natal dispersal. In *Dispersal* (eds J. Clobert, E. Danchin, A.A. Dhondt & J.D. Nichols), pp. 452. Oxford University Press, Oxford.
- Perrins, C.M. (1965) Population fluctuations and clutch -size in the great tit, *Parus major* L. *Journal of Animal Ecology*, 34, 601-647.
- Perrins, C.M. (1979) *British tits* Collins, London.
- Pusey, A.E. & Packer, C. (1987) The evolution of sex-biased dispersal in lions. *Behaviour*, 101, 275-310.
- Ribble, D.O. (1992) Dispersal in a monogamous rodent, *Peromyscus californicus*. *Ecology*, 73, 859.
- Ronce, O., Clobert, J., & Massot, M. (1998) Natal dispersal and senescence. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 95, 600-605.
- Ronce, O., Olivieri, I., Clobert, J., & Danchin, E. (2001). Perspectives on the study of dispersal evolution. In *Dispersal* (eds J. Clobert, E. Danchin, A.A. Dhondt & J.D. Nichols), pp. 452. Oxford University Press, Oxford.
- Rousset, F. & Gandon, S. (2002) Evolution of the distribution of dispersal distance under distance-dependent cost of dispersal. *Journal of Evolutionary Biology*, 15, 515-523.
- Sinervo, B. & Clobert, J. (2003) Morphs, dispersal behavior, genetic similarity, and the evolution of cooperation. *Science*, 300, 1949-1951.
- Strickland, D. (1991) Juvenile dispersal in gray jays: dominant brood member expels siblings from natal territory. *Canadian Journal of Zoology*, 69, 2935-2945.
- Townsend, D.E., Leslie, D.M., Lochmiller, R.L., DeMaso, S.J., Cox, S.A., & Peoples, A.D. (2003) Fitness costs and benefits associated with dispersal in northern bobwhites (*Colinus virginianus*). *American Midland Naturalist*, 150, 73-82.

Verhulst, S., Perrins, C.M., & Riddington, R. (1997) Natal dispersal of great tits in a patchy environment. *Ecology*, 78, 864-872.

Verhulst, S. & Van Eck, H.M. (1996) Gene flow and immigration rate in an island population of great tits. *Journal of Evolutionary Biology*, 9, 771-782.

White, G.C. (2002) Mark and recapture survival rate estimation.
<http://www.cnr.colostate.edu/~gwhite/mark/mark.htm>, Fort Collins.

Wiens, J.A. (2001). The landscape context of dispersal. In *Dispersal* (eds J. Clobert, E. Danchin, A.A. Dhondt & J.D. Nichols), pp. 452. Oxford University Press, Oxford.

○ LEGENDS

Table 1

The 6 groups used in the analysis. Individuals were classified according to their *gender* (male/female), *origin* (born in or outside the wood: resident/immigrant) and *early reproductive effort* (first reproduction at age one or two: 'no skip'/'skip'). Because it is not possible to know the age of birds older than one year, we have removed from the analysis the immigrant birds that were first captured after one year ('Immigrant skip').

Table 2

Model selection for parents' age (young/old) and offspring gender on natal dispersal probability of great tits breeding in the Wytham Wood, Oxfordshire. Dispersal has been considered as a discontinuous phenomenon and measured on a linear short-distance scale or at the between-habitats scale. Dispersal probability has been analysed with a generalised mixed model (GLMM, software R, binomial family, logit link) with offspring gender, father's and mother's age and their interactions as fixed covariables and clutch code as a random effect. Non significant interactions have been removed from the analysis. The significant interaction between mother's age and offspring gender has been studied in more detail by analysing the effect of the father's and mother's age on dispersal probability of young males and young females separately. The table presents the fixed effects of the models (Est. estimator, s.e.: standard error; d.f.: degree of freedom; |Z|: Z value).

Figure 1

Level plot representing the Chi-square value of the effect of gender on natal dispersal where philopatric birds reproduced at a distance from their natal nest box lower than the "inf" boundary and dispersers were birds that reproduced further than the "sup" boundary ($0 < inf < sup$), the individuals between "inf" and "sup" being removed from the analysis. By varying "inf" and "sup", the distances that maximise the effect of gender in dispersal behaviour (maximum of the Chi-square value of the effect of gender in a logistic regression) can be found on the correlogram and correspond to 500 m and 900 m.

Figure 2

Age dependent local survival probability in the six groups defined in Table 1. Predicted values of the local survival probability from the selected model are represented with 95% confidence intervals. Survival at age 1 means survival from one year old to two years old.

Figure 3

Mean proportion of dispersing males (closed circle & straight line) and females (open circle & dotted line) with 95% confidence intervals in relation to their mother's age (young: <5 years old; old: >=5 years old). In both measures of dispersal (A: short-distance dispersal defined with a correlogram approach cf. text and Fig. 2; B between-habitats dispersal inside the wood), young females tend to disperse less frequently when their mother is old, whereas young males do not (interaction offspring gender*mother's age A: P=0.07; B: P=0.019).

TABLE 1 The 6 groups used in the analysis

	<i>"Skip"</i>		<i>"No skip"</i>	
Resident	Female	Male	Female	Male
Immigrant			Female	Male

TABLE 2 Model selection for parents' age (young/old) and offspring gender on natal dispersal probability.

Offspring	Factor	Short-distance dispersal					Between-habitats dispersal				
		Est.	s.e.	d.f.	Z	P	Est.	s.e.	d.f.	Z	P
Males and females	Intercept	0.617	0.066	639	9.27	<0.0001	0.956	0.060	1071	15.80	<0.0001
	Offspring gender	-1.078	0.091	639	11.77	<0.0001	-0.648	0.080	1071	8.07	<0.0001
	Father's age	0.018	0.190	1453	0.10	0.92	0.021	0.167	1800	0.13	0.89
	Mother's age	-0.822	0.456	1453	1.80	0.07	-0.818	0.384	1800	2.13	0.033
	Mother's age * Offspring gender	1.116	0.617	639	1.81	0.07	1.308	0.559	1071	2.34	0.019
Males	Intercept	-0.466	0.066	196	7.02	<0.0001	0.301	0.055	330	5.44	<0.0001
	Father's age	0.104	0.273	856	0.38	0.70	0.157	0.236	1116	0.66	0.50
	Mother's age	0.299	0.417	856	0.72	0.47	0.498	0.405	1116	1.23	0.22
Females	Intercept	0.621	0.067	177	9.20	<0.0001	0.926	0.058	371	15.90	<0.001
	Father's age	-0.062	0.265	862	0.24	0.81	-0.132	0.222	1276	0.60	0.55
	Mother's age	-0.806	0.457	862	1.76	0.077	-0.667	0.352	1276	1.89	0.058

FIGURE 1

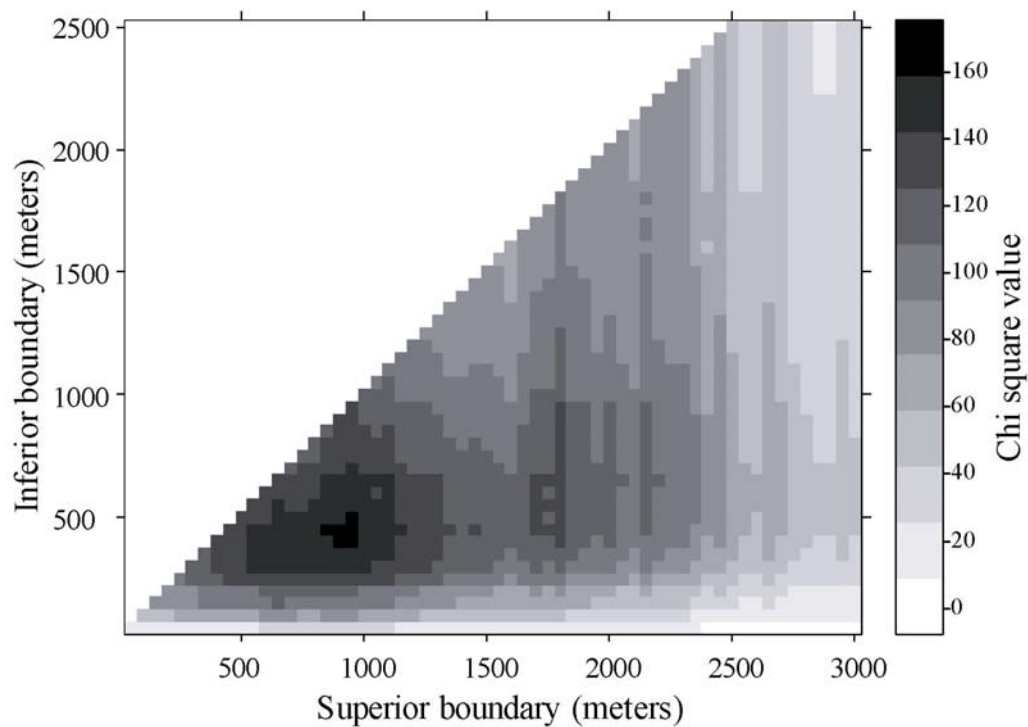


FIGURE 2

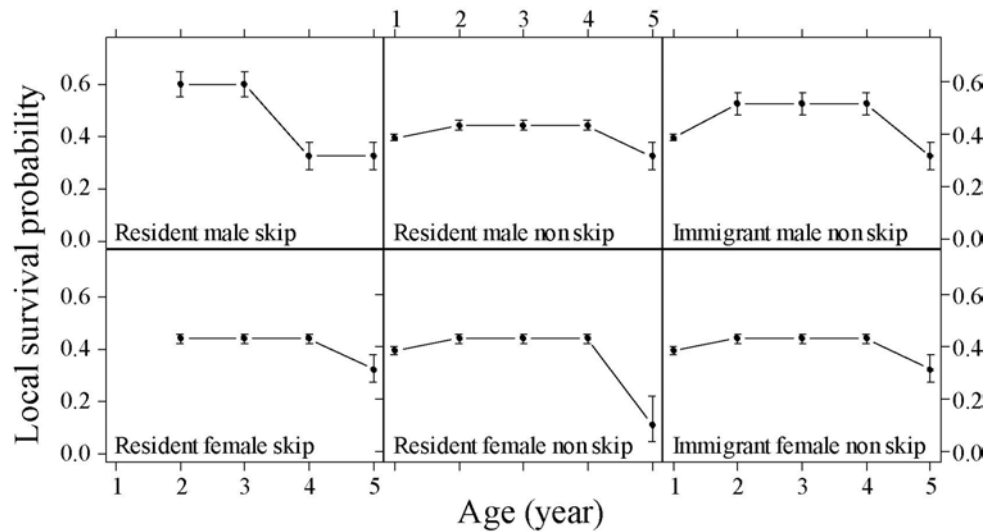
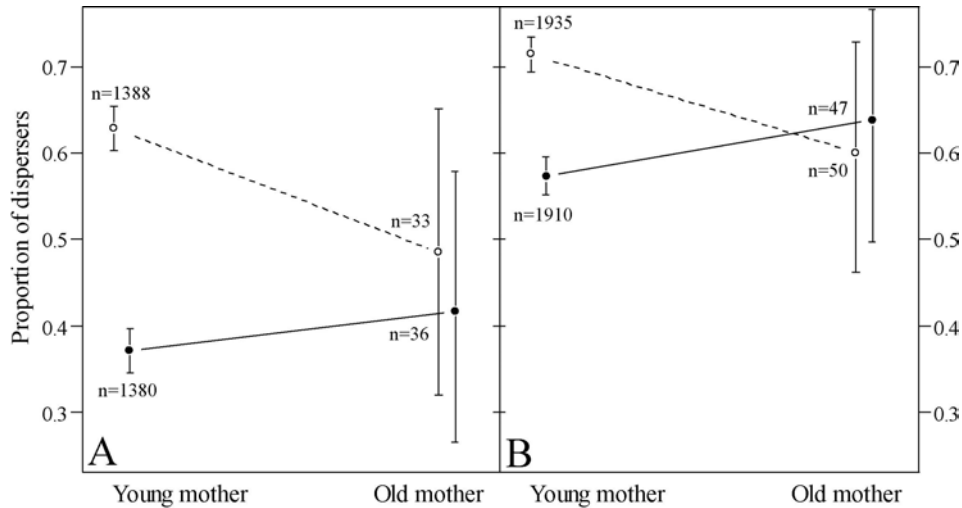


FIGURE 3



A II Fonction de rééchantillonnage

A II 1) Fonction pour échantillonner sur les clones et au sein des clones

```
bootclon <- function(x ) { gr<- unique(x$Clone)
c <- length(gr) # c : nb de clones
sample<-x[1,]
for (i in 1:c) { d <- ceiling(runif(1, 0, c)) # tirage au sort d'un clone
bid<-subset(x, Clone==gr[d]) #on extrait les données concernant ce clone
e<- dim(bid)[1] # e c'est le nombre d'observations pour ce clone
for (i in 1:e) { u <- ceiling(runif(1, 0, e))
sample<- rbind(sample, bid[u,]) }
sample<-sample[c(2:dim(sample)[1]),] #pour supprimer la première ligne
return(sample)
```

A II 2) Fonction pour calculer l'héritabilité

A II 2 a) Héritabilité de la plasticité

```
hp<-function(mo){
mod<-update(mo, method="REML")
100*(as.numeric(VarCorr(mod)[4,1])/(as.numeric(VarCorr(mod)[2,1])+as.numeric(VarCorr(mod)[4,1])+as.numeric(
VarCorr(mod)[5,1])))}
```

A II 2 b) Héritabilité au sein d'un environnement

```
h<-function(mo){
mod<-update(mo, method="REML")
100*(as.numeric(VarCorr(mod)[1,1])/(as.numeric(VarCorr(mod)[1,1])+as.numeric(VarCorr(mod)[2,1])))}
```

A II 3) Exemple de fonction pour calculer l'héritabilité de la Taille de ponte

```
meanboot <- function(x, rep=500) {
A <-numeric(rep); B <-numeric(rep);
for (i in 1:rep) {
dat<-bootclon(x)
mod<- lme(Taille~Environnement, dat, random=~1|Clone)
A[i] <- h(mod)
mod<- lme(Taille~ Environnement, dat, random=~1|Clone/Environnement)
B[i] <- hp(mod)
}
return(data.frame(hmoyenne=A, hplasticité=B))
}
```

A III The analysis of reaction norms for age and size at maturity using maturation rate models, *Evolution*, 2005, 59 (3), p500-506

Evolution, 59(3), 2005, pp. 500–506

THE ANALYSIS OF REACTION NORMS FOR AGE AND SIZE AT MATURITY USING MATURATION RATE MODELS

TOM J. M. VAN DOOREN,^{1,2} THOMAS TULLY,³ AND RÉGIS FERRIÈRE^{3,4}

¹*Institute of Biology, Section Animal Ecology, Kaiserstraat 63, 2311 GP Leiden, The Netherlands*

²*E-mail: vdooren@rulsfb.leidenuniv.nl*

³*UMR7625 Fonctionnement et Évolution des Systèmes Biologiques, Unit of Mathematical Evolutionary Biology,*

Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France

⁴*Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Arizona, Tucson, Arizona 85721*

Abstract.—Reaction norms for age and size at maturity are being analyzed to answer important questions about the evolution of life histories. A new statistical method is developed in the framework of time-to-event data analysis, which circumvents shortcomings in currently available approaches. The method emphasizes the estimation of age- and size-dependent maturation rates. Individual probabilities of maturation during any given time interval follow by integrating maturation rate along the growth curve. The integration may be performed in different ways, over ages or sizes or both, corresponding to different assumptions on how individuals store the operational history of the maturation process. Data analysis amounts to fitting generalized nonlinear regression models to a maturation status variable. This technique has three main advantages over existing methods: (1) treating maturation as a stochastic process enables one to specify a rate of maturation; (2) age and size at which maturation occurs do not have to be observed exactly, and bias arising from approximations and interpolations is avoided; (3) ages at which sizes are measured and maturation status are observed can differ between individuals. An application to data on the springtail *Folsomia candida* is presented. Models with age-dependent integration of maturation rates were preferred. The analysis demonstrates a significant size dependence of the maturation rate but no age dependence.

Key words.—Event histories, life-history variation, maturation rate, survival analysis.

Received June 7, 2004. Accepted December 5, 2004.

There is growing interest in understanding how environmental changes affect individual processes with a direct impact on fitness and, consequently, on population dynamics and viability. Demonstrating life-history change requires suitable statistical methods that can handle complex datasets, which involve multiple sources of noise. In this context, the maturation process and related life-history traits have received considerable attention. Recently, Olsen et al. (2004) used a method tailored to their study system (Heino et al. 2002) that allowed them to detect significant changes in age and size at maturity in a notoriously overfished stock (northern Atlantic cod).

The method proposed by Heino et al. (2002) involves estimating probabilistic reaction norms, which describe the likelihood that immature individuals of a given age and size will mature during a specific time interval, assuming that size and age are sufficient to predict maturation. The notion of a probabilistic reaction norm extends the concept originally introduced by Stearns and Koella (1986), who assumed that the maturation risk was zero below a certain age- and size-dependent threshold, and infinite above. The reaction norm was then accurately described by the dependence of that threshold on age and size. Maturation was thus considered to be a deterministic process because an individual with a certain growth trajectory is expected to mature exactly when its trajectory crosses the reaction norm. However, maturation often has a stochastic component, with different ages and sizes at maturation even for individuals with similar juvenile growth trajectories (Ebert 1991; Morita and Morita 2002). When physiological variables with a direct causative effect on maturation are observed, it is quite likely that their effect is deterministic. With more phenomenological observations of ages and sizes at different ages, one has to allow for

maturation risks that are neither zero nor infinite, which is the case in the method introduced by Heino et al. (2002).

Heino et al.'s (2002) method focuses on data that have a natural periodicity and synchronous observations, such as observations on maturation probabilities in year classes of fish stocks (Grift et al. 2003). We extend their method with an approach that does not require periodicity in the data. It allows for an analysis of probabilistic reaction norms in which age is not considered to be a discrete class variable, as in Heino et al. (2002), but is seen as continuous. Maturation status and size are observed at a set of discrete points in time, which can differ between individuals. We apply the method to maturation data of *Folsomia candida*. Maturation probabilities and rates cannot be estimated from these data using previously existing approaches.

MODELING THE MATURATION PROCESS

Maturing is a bit like dying. Mortality and maturation processes both generate data in the form of durations until an event of a certain type is observed, be it death or maturation. Such data can be analyzed using typical methods for counting processes and event histories (Andersen et al. 1993; Therneau and Grambsch 2000; Collet 2003), of which survival analysis is the most commonly known.

In survival analysis, survival probabilities are constructed by integrating an instantaneous death rate, the hazard rate, over time to obtain a cumulative hazard. These death rates can depend on covariates or random effects. Therefore, an important aspect of survival analysis is comparing the fit of different hazard rate models. A major question is whether calendar time always is the relevant time scale to integrate the mortality rate over. For example, the survival probability of a smoker likely depends on the number of cigarettes

smoked and not simply on age. It might be more relevant to integrate a death rate over the number of cigarettes smoked by an individual, instead of age, to assess cumulative hazard and predict survival. In reliability analysis, measures of system wear are not necessarily proportional to age, and it is relevant to integrate hazard or failure rates over the operational history of a system (Kordonsky and Gertsbakh 1995). Some attention has been devoted to choosing among different time scales (Kordonsky and Gertsbakh 1995; Duchesne and Lawless 2000). The issue is relevant for the analysis of maturation processes as well.

A maturation decision will be taken by an individual on the basis of a maturation process that is changing state with a certain instantaneous rate and in which the maturation decision must often be taken on the basis of cumulative effects or the operational history of the maturation system. Many possibilities can be imagined for the way that such a process could actually work. For example, maturation can depend on the concentration of a specific hormone that decays after birth. The maturation rate then is determined by the rate of change of the hormone concentration, and the maturation probability can be obtained by integrating the concentration changes over ages. Another type of process occurs when the organism only changes maturation status when it grows. In such an organism, it is more relevant to integrate maturation rates over sizes. The relevant time scale would be a size variable. In addition, maturation risk could accumulate over different time scales at once. Because the exact nature of the maturation process often remains unknown, it is important to have methods at hand that not only allow modeling maturation rates in a flexible manner but also different time scales. In the study of reaction norms for age and size at maturity, it seems obvious to focus primarily on age and size as time scales. However, the method presented here can be extended to incorporate other time scales, perhaps more related to physiological variables.

INSTANTANEOUS MATURATION RATE

Using methods for event histories to study the maturation process allows the estimation of an instantaneous rate of maturing. This rate corresponds to the instantaneous mortality rate, or hazard rate, in classical survival analysis (Collet 2003). The hazard rate is commonly modeled by using the Weibull and Gompertz hazards; the logarithm of a Gompertz hazard is linear in covariates, whereas the Weibull hazard rate has a shape parameter that allows for nonlinear dependence on a covariate (Collet 2003). In the context of analyzing age and size at maturity, two main explanatory variables change with time. A semiparametric approach such as the often used Cox's proportional hazard regression does not allow for variables such as age or size that change with time in a continuous manner (Collet 2003). Parametric models for maturation rates with time-dependent covariates that have Gompertz or Weibull functional forms can be constructed easily (Petersen 1986). Therefore, the rates given here will be incorporated in such parametric models.

Equation (1) is a maturation rate expression with the Weibull polynomial form,

$$h_f(a, x) = \gamma_f(\beta_{0,f} + \beta_{a,f}a + \beta_{x,f}x)^{\gamma_f-1}. \quad (1)$$

Age is denoted by a and size by x . Observations on different individuals are indexed with i . Four parameters specify the maturation rate of an individual: $\beta_{0,i}, \beta_{a,i}, \beta_{x,i}, \gamma_i$. These parameters can differ between individuals according to any grouping factor, such as species, genotypes, or experimental treatments. The maturation rate must be constrained to be positive. It depends linearly on age a and size x when the shape parameter γ_i equals 2; otherwise, the dependence is nonlinear. Note that in comparison to a standard Weibull rate, a linear expression of age and size is substituted for time. Another Weibull rate (eq. 2) can be used to allow for different positive exponents $\gamma_{a,i}$ and $\gamma_{x,i}$ in the age and size dependence:

$$h_f(a, x) = \beta_{0,i} + \beta_{a,i}\gamma_{a,i}a^{\gamma_{a,i}-1} + \beta_{x,i}\gamma_{x,i}x^{\gamma_{x,i}-1}. \quad (2)$$

When the exponents $\gamma_{a,i}$ and $\gamma_{x,i}$ are equal, we obtain a different rate than given by Equation (1). Finally, a Gompertz type maturation rate is given by:

$$h_f(a, x) = \exp(\beta_{0,i} + \beta_{a,i}a + \beta_{x,i}x). \quad (3)$$

The maturation rate here depends exponentially on a linear expression that contains age and size covariates.

Figure 1 plots examples of the dependency of the maturation risk on age and size. Note that, in general, the maturation rate is a function with two arguments that change through time: age and size. Other time-varying parameters could be incorporated similarly as arguments of the maturation rate. Figure 1 shows that maturation rates do not necessarily vary between zero and one, as probabilities do. They are nonnegative and should be thought of as a speed of the maturation process. To obtain probabilities of maturation from them, they still need to be integrated. Equations (1–3) were chosen for two main reasons. They offer flexible models of the dependence of the maturation rate on age and size, making it possible to capture many potential shapes of maturation rate patterns (Fig. 1). For instance, in Figure 1C, maturation is more size dependent for fast-growing individuals (large x for small a) and more age dependent for slow growers (small x for large a), whereas the reverse is true in Figure 1B. Second, equations (1–3) can be integrated easily over age and size, giving analytical expressions for the integrals of the next section.

In the analysis of event histories, methods for rates depending on explanatory variables that are changing with time are not yet commonly used. Petersen (1986) discussed how to develop and fit parametric maturation rate models with time-dependent covariates. From such a maturation rate model, one can construct probabilities of maturing at certain ages and sizes or within an age or size interval. These probabilities require integration of the maturation rate over an age and size interval and can be used to calculate the likelihood of a dataset, given a set of parameter values.

INTEGRATED MATURATION RATES

Maturation is an event that will happen somewhere along the growth curve of each individual. The probability that such an event takes place at a certain point depends on the maturation rate and on the growth trajectory already covered. Therefore, to obtain probabilities of maturation in a certain

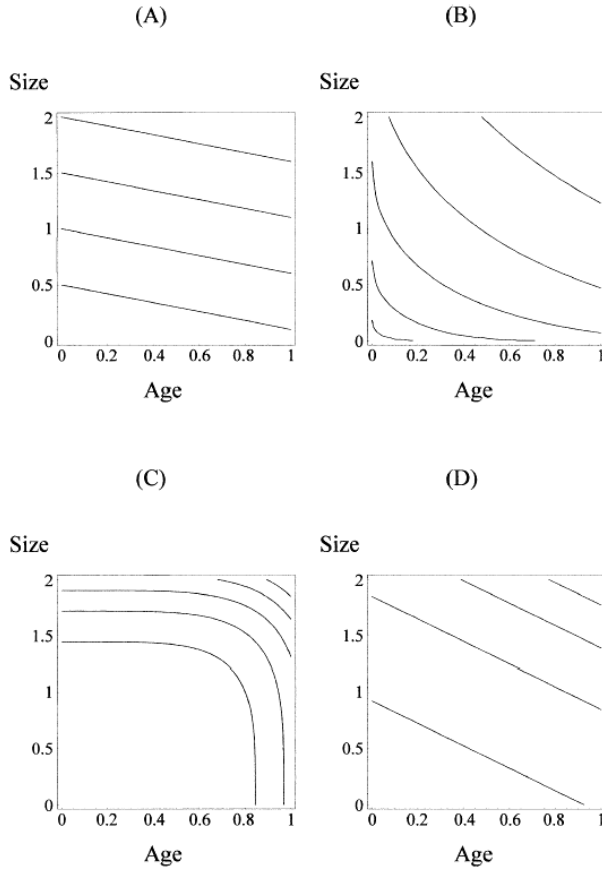


FIG. 1. Examples of maturation rate functions with a linear (A–C) or exponential (D) dependence on age and size. (A) Weibull type (eq. 1) with $\beta_0 = 0$, $\beta_a = 0.8$, $\beta_x = 2$, $\gamma = 2$. (B) Weibull type (eq. 2) with $\beta_0 = 0$, $\beta_a = 10$, $\beta_x = 10$, $\gamma_1 = 1.5$, $\gamma_2 = 1.5$. (C) Weibull type (eq. 2) with $\beta_0 = 0$, $\beta_a = 0.95$, $\beta_x = 0.55$, $\gamma_1 = 6$, $\gamma_2 = 5$. (D) Gompertz type (eq. 3) with $\beta_0 = 0$, $\beta_a = 0.75$, $\beta_x = 0.75$. Contours are at values 2, 4, 6, 8, 10 of the maturation rate. The highest values of the maturation rate are always in the upper right corner.

interval, we have to integrate rates of maturation along such growth curves. Such integrals can be calculated as line integrals over age or size or as path integrals along the size-age growth trajectory (e.g., Garrity 2002). The difference between these possibilities is that they correspond to different ways that individuals use to keep track of maturation status, and each type of integral corresponds to a certain way of storing the status of the maturation process. A line integral over ages assumes that maturation status primarily changes with calendar time. An example is when maturation is determined by the concentration of a metabolite that decays with a variable rate. If abrupt size changes do not affect that concentration directly, such that a size change in itself does not move the maturation system ahead, an integral over ages (proportional to calendar time) seems the most appropriate way to integrate rates of changes of the maturation process. Even when integration is over ages only, the decay rate of

the metabolite can still be age and size dependent. In another organism, it can happen that no individual matures during periods where no size change occurs. In such systems, it is likely that organisms use their size to measure the progress of maturation. Systems in which time scales are a combination of age and size time scales are better described by models with path integration.

We assume that the growth trajectory is linear between observations. This assumption can be relaxed easily, but makes integration easier and is sufficient for the analysis presented here. It also avoids fitting a nonlinear growth model to obtain growth curve parameters. If we denote age and size for the observation at the start of the j th interval on the growth trajectory of individual i by $a_{i,j-1}$ and $x_{i,j-1}$ and for the observation at the end of the interval by $a_{i,j}$ and $x_{i,j}$, then we can calculate size over that interval as a linear function of age:

$$x_{i,j}(a) = x_{i,j-1} + \frac{x_{i,j} - x_{i,j-1}}{a_{i,j} - a_{i,j-1}}(a - a_{i,j-1}). \quad (4)$$

Alternative types of line integrals can be subsumed in one generalized type of path integral. In the standard path integral, age and size have equal weights on distance, but that assumption can be relaxed.

The generalized path integral can be calculated as

$$M_j(h_i) = \sqrt{c_a + c_x \left(\frac{x_{i,j} - x_{i,j-1}}{a_{i,j} - a_{i,j-1}} \right)^2} \int_{a_{j-1}}^{a_i} h_i[a, x_{i,j}(a)] da. \quad (5)$$

This path integral contains a factor that scales or weighs the importance of age and size on the length of the interval in a combined operational time scale, by scale factors c_a and c_x . With both weights fixed at a value of one, we recover the standard path integral. Scale factors $c_a = 1$ and $c_x = 0$ correspond to integration over ages, the values $c_a = 0$ and $c_x = 1$ to integration over sizes. Rescaling the age or size range has the same effect as changing these scale factors: both rescale the length of growth curves and the relative importance of age and size on curve length. Therefore, the distance weights or scale parameters for age and size become part of the maturation model, allowing model selection among types of integration, which represent properties of the maturation system. An a priori choice of a particular type of integration can be made, based on biological assumptions or knowledge about how individuals measure the progress of maturation time.

Note that integration in the generalized path integral (eq. 5) actually occurs with age as the integration variable. One can therefore still read it as the integration of a certain hazard over age. In that interpretation, the hazard will be individual specific, as it depends on the growth curve. We believe that it is more useful and more intuitive to think of the maturation process as occurring on a hazard landscape that is not necessarily different for each individual and on which an individual growth curve samples a specific path.

In survival analysis, the hazard rate is used to calculate probabilities of survival from age 0 to a certain age. These probabilities are equal to $\exp(-H)$, where H stands for the integrated hazard over the age interval. Similarly, we use integrated maturation rates to calculate probabilities that in-

dividuals that are growing along a certain growth curve mature in a certain age and size interval. The probability of not maturing in the interval between $(a_{i,j-1}, x_{i,j-1})$ and $(a_{i,j}, x_{i,j})$, given that it did not occur before age $a_{i,1}$ either, is equal to

$$S_{ij} = \exp[-M_j(h_i)], \quad (6)$$

where h_i is a maturation rate function such as equations (1–3), and M is the integrated maturation rate (eq. 5; see also Collet 2003). One minus this quantity gives the probability of maturation in the j th interval,

$$P_{ij} = 1 - S_{ij}. \quad (7)$$

For linear growth trajectories, Figure 2 illustrates probabilistic reaction norms (Heino et al. 2002) for different combinations of integration and hazard function. These reaction norms connect the points on the different growth curves where individuals have a certain probability to have matured by then (here 25%, 50%, and 75%). Even a combination of a constant maturation rate with different integration types gives reaction norms of different shapes. The choice of integration leads to reaction norms that are age, size, or both age and size dependent. If one uses a standard path integral or a line integral over sizes to calculate probabilities of maturation, then individuals that grow more during a fixed age interval have a larger probability of maturing. When integration is a line integral over age, the maturation probability is constant for a given age interval, irrespective of growth. For maturation rates that are both age and size dependent, the reaction norm obtained using a standard path integral matches the shape of the maturation rate most closely (cf. Figs. 1 and 2). For individuals that mature at young age, little time has passed when integration is over age; this changes the shape of the reaction norm relative to the maturation rate, pushing the probability of being mature toward larger sizes. A similar distortion is observed when maturation rates are size dependent and integration is over size. The reaction norm is pushed toward older age for individuals that mature at small size (Fig. 2).

Thus, we advocate for age- and size-scale factors to be estimated when real data are analyzed, unless biological facts can justify a priori focusing on one type of line integral in particular. Virtually identical reaction norms can be obtained by combining different models of maturation rate and types of integration. Therefore, it may often be difficult to obtain a unique best-fitting model in practice, even for large datasets.

ANALYZING INTERVAL-CENSORED DATA

In most empirical studies, an individual i enters the study at some time $t_{i,0}$ and is observed at a number of discrete census events $t_{i,j}$ ($j = 1, \dots, k_i$), where size is measured and maturity status recorded (Heino et al. 2002). Such data are called interval censored, because one never knows exactly when a maturation event happened—one only knows whether or not it occurred during any given interval. In the analysis, we do not take into account the intervals following maturation nor those of individuals that did not survive until the next census event. This will not affect our conclusions if survival is independent of the interval censoring.

With age and size being $(a_{i,j-1}, x_{i,j-1})$ at the start of the j th

interval and $(a_{i,j}, x_{i,j})$ at the end, the conditional probability that the individual matures is given by P_{ij} (eq. 7), where the maturation rate has been chosen from one of the models equations (1–3), and integration is according a generalized path integral (eq. 5). For each interval, the data contain an indicator variable of maturation status, which is zero when maturation did not occur in the interval and one when it did. We model the probability that the maturation status in the j th interval is equal to one by taking P_{ij} given by equation (7) as the mean of a Bernoulli random variable and age and size at the start and at the end of the interval as covariates. Because the integrated maturation rates usually are nonlinear with regard to age and size, generalized nonlinear models (Lindsey 2001) have to be used for this purpose. To avoid overparametrized models, at least one of the weights c_a or c_x (eq. 5) has to be fixed at one.

Comparison of the fit of different maturation rates and scale factors, as well as hypothesis testing, can then be carried out by means of standard maximum likelihood techniques (Pawitan 2001). These include likelihood ratio statistics to test hypotheses on nested models and the Akaike information criterion (AIC; Akaike 1973; Burnham and Anderson 2002). AIC is a measure of model fit penalized by the number of parameters estimated in the model. It favors both a better fit and model parsimony and is often used in model selection. Generally, models with smaller AIC values are preferred.

The maturation models presented can also be investigated when ages and sizes at maturity are known exactly. For each specific set of model parameters, the probability density $f(a, x)$ of maturing at age a and size x then is equal to the probability of not maturing from age 0 and size at birth up to age a and size x (eq. 6), multiplied by the maturation rate at a and x (eqs. 1–3). In this case, the appropriate methodology is to analyze not Bernoulli probability distributions for a maturation status variable but nonstandard probability distributions for maturation age and size.

EXAMPLE OF ANALYSIS

We estimated maturation rates from data on the parthenogenetic springtail *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae, Willem 1902) using a isofemale clone (BR) originated from the strain collected by Dr. Guy Vannier in Brunoy, France, in 1974 and kept in the laboratory since then. The data analysis was carried out using R statistical software (Ihaka and Gentleman 1996; www.r-project.org) with library *gnlm* (Lindsey 2001).

Twenty neonates were isolated just after birth and kept in separate rearing boxes. To increase the variation among growth trajectories, two food treatments were applied: unlimited food (dried yeast) was provided to half of the individuals, whereas the others had access to food only one day per week. Boxes were checked regularly to determine whether the individuals had laid eggs and to measure the body length of the individuals using image analysis of digital pictures taken of live individuals (Image J, Rasband 2003). The mean length of intervals between size measurements was 118 h (SD = 38 h). The data variables for our analysis are, for each individual, the ages and sizes at the beginning and at the end of each observation interval. Appendix 1 gives an example

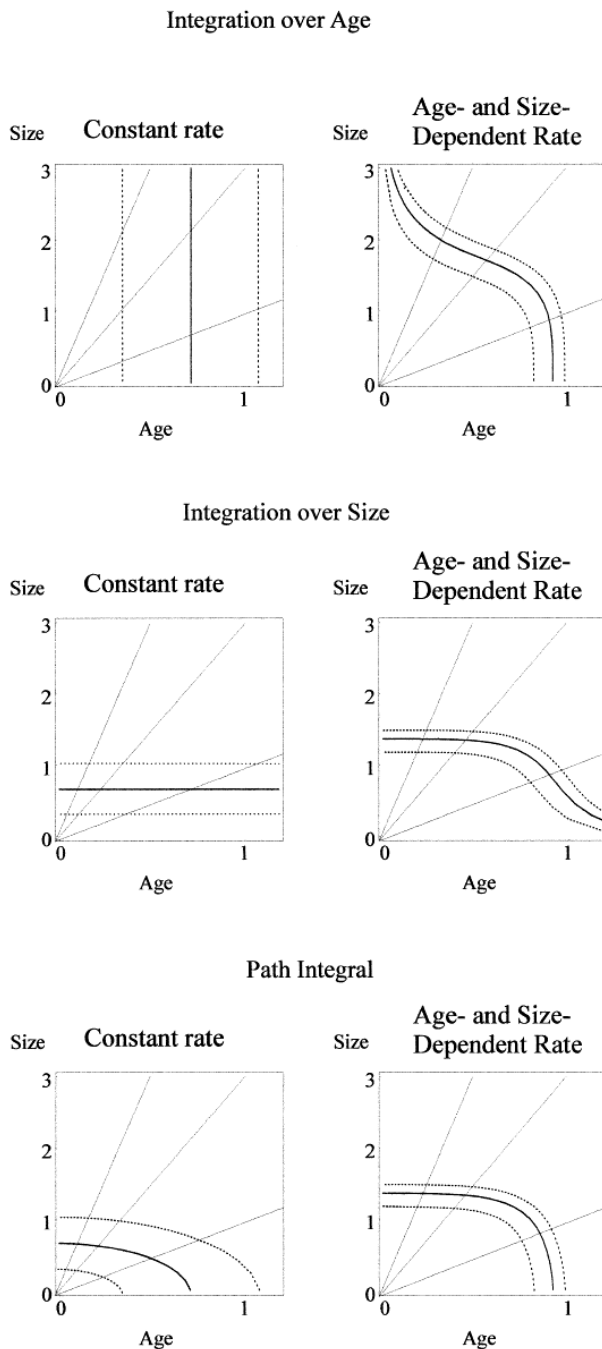


FIG. 2. Probabilistic reaction norms. Assuming linear growth curves starting at age and size 0, we integrated maturation rates in different ways, to obtain probabilities of being mature at different ages and sizes along a growth curve. A few linear growth curves are shown to stress that the reaction norms can only be drawn by assuming a specific shape of growth curve. Thicker lines connect points on growth curves where the probabilities of being mature are 0.25 (lower dotted), 0.50 (solid) and 0.75 (upper dotted). These lines can be interpreted as probabilistic reaction norms. It can be seen that even for a constant maturation rate (Weibull type eq. 2,

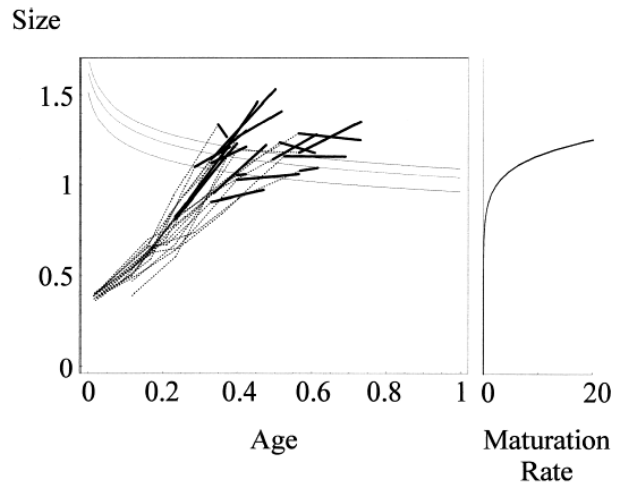


FIG. 3. Size-dependent maturation rate in *Folsomia candida*. Growth data for juveniles until their first observation as mature individuals are given. All individuals in the experiment reached maturity. Age-size intervals between observations on juveniles are drawn as stippled lines. The interval in which maturation occurred is drawn as a solid line. Intervals after maturation are not plotted because they are not taken into account in the analysis. Predicted probabilistic reaction norms (25%, 50%, and 75% mature) are superimposed. These assume that growth is linear starting from initial size 0.3 mm. The panel on the right shows the steep rise of the maturation rate with size.

of the R code necessary to fit a maturation rate model. One can see that the maturation probability (eq. 7) becomes an explicit expression of these ages and sizes, and that the analysis amounts to fitting a specific nonlinear regression to ages and sizes. We fitted rate functions (eqs. 1–3) that depended on size (mm) and age (in units of 1000 h) to growth trajectory data and maturation status (Fig. 3) and integrated rates using generalized path integrals or specific line integrals.

We did not group the data according to the food treatments, since we planned treatments to obtain variation in growth curves. When observations with a size decrease are integrated over size, then perceived time goes backward over the interval. Therefore, we selected observations for which the size increase was positive. When we fixed scale factor c_a at one, the estimates for the size distance weight c_x were close to zero for all rate models, and integration over age alone always gave the lowest AIC values. We conclude that for the maturation system of *F. candida*, age is closest to the real operational time scale. For each main type of integration (distance weights not estimated but fixed), Table 1 lists AIC values of different rate models. No parameters in the rate models are constrained at zero. Among the maturation rates, AIC values for Weibull type 1 (eq. 1) and Gompertz (eq. 3)

← $\beta_0 = 0.7$, other parameters zero), the choice of integration has dramatic effects on the shape of the reaction norm. The reaction norms for age- and size-dependent maturation rate are calculated using the Weibull rate of Figure 1C.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank T. Day and two anonymous reviewers for useful comments. This research was supported by the European Modlife Research Training Network, funded through the Human Potential Programme of the EU (Contract HPRN-CT-2000-00051); the ACI "Invasions Biologiques" from the French Ministry of Environment; a grant from the NSF REU Biomath program to RF and Alex Badyaev; a VENI grant from the Netherlands Organization for Scientific Research (NWO) to TVD.

LITERATURE CITED

- Akaike, H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. Pp. 267–281 in B. N. Petrov and F. Csaki, eds. Second international symposium on information theory. Akademiai Kiado, Budapest.
- Andersen, P. K., O. Borgan, R. D. Gill, and N. Keiding. 1993. Statistical models based on counting processes. Springer-Verlag, New York.
- Burnham, K. P., and D. Anderson. 2002. Model selection and multi-model inference. Springer-Verlag, New York.
- Collet, D. 2003. Modelling survival data in medical research. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Day, T., and L. Rowe. 2002. Developmental thresholds and the evolution of reaction norms for age and size at life history transitions. *Am. Nat.* 159:338–350.
- Duchesne, T., and J. Lawless. 2000. Alternative time scales and failure time models. *Lifetime Data Analysis* 6:157–179.
- Ebert, D. 1991. The effect of size at birth maturation threshold and genetic differences on the life-history of *Daphnia magna*. *Oecologia* 86:243–250.
- Garrity, T. A. 2002. All the mathematics you missed (but Need to know for graduate school). Cambridge Univ. Press, Oxford, U.K.
- Grift, R. E., A. D. Rijnsdorp, S. Barot, M. Heino, and U. Dieckmann. 2003. Fisheries-induced trends in reaction norms for maturation in North Sea plaice. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 257:247–257.
- Heino, M., U. Dieckmann, and O. R. Godø. 2002. Measuring probabilistic reaction norms for age and size at maturation. *Evolution* 56:669–678.
- Ihaka, R., and R. Gentleman. 1996. R: A language for data analysis and graphics. *J. Comput. Graph. Stat.* 5:299–314.
- Kordonsky, K. B., and I. Gertsbakh. 1995. System state monitoring and lifetime scales. I. Reliability Engineering and System Safety 47:1–14.
- Lindsey, J. K. 2001. Nonlinear models in medical statistics. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.
- Morita, K., and S. H. Morita. 2002. Rule of age and size at maturity: individual variation in the maturation history of resident white-spotted charr. *J. Fish Biol.* 61:1230–1238.
- Olsen, E. M., M. Heino, G. R. Lilly, M. J. Morgan, J. Brattey, B. Ernande, and U. Dieckmann. 2004. Maturation trends indicative of rapid evolution preceded the collapse of northern cod. *Nature* 428:932–935.
- Pawitan, Y. 2001. In all likelihood: statistical modelling and inference using likelihood. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K.
- Petersen, T. 1986. Fitting parametric survival models with time-dependent covariates. *Appl. Statist.* 35:281–288.
- Plaistow, S. J., C. T. Lapsley, A. P. Beckerman, and T. G. Benton. 2004. Age and size at maturity: sex, environmental variability and developmental thresholds. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271:919–924.
- Radke, B. R. 2003. A demonstration of interval-censored survival analysis. *Prev. Vet. Med.* 59:241–256.
- Rasband, W. 2003. ImageJ. Available via <http://rsb.info.nih.gov/ij/>. U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD.
- Stearns, S. C., and J. C. Koella. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: predictions of reaction norms for age and size at maturity. *Evolution* 40:893–913.
- Therneau, T. M., and P. M. Grambsch. 2000. Modelling survival data: extending the Cox model. Springer-Verlag, New York.

Corresponding Editor: T. Day

APPENDIX 1

This appendix gives an example of input for the R software package to perform maturation rate analysis (lines starting with # are comments). The intervals between observations on an individual are treated as independent sample points. The names of data variables are: a2, the age at the end of each observation interval; a1, the age at the start of each interval; x1, the size at the start of each interval; and x2, the size at the end of each interval. The variable "resp" is a maturation indicator. It is equal to zero when no maturation event occurred in the interval, it is equal to one when maturation occurred in that interval. The age scale parameter is fixed at value one in this model example. For the size scale parameter, we use an exponential transformation, such that it remains positive.

```
# Hazard (eq. 1)
# the function p is one minus the integrated hazard (eq. 7);
# it is a function of five parameters, given by vector b.
# These parameters include four rate coefficients and one distance
weight
p<-function(b){1-exp(-(a2-a1)^2+exp(b[5])*(x2-x1)^2)^0.5
  *((b[1]+b[2]*a2+b[3]*x2)^b[4]-(b[1]+b[2]*a1+b[3]*x1)^b
  [4])/(b[2]*(a2-a1)+b[3]*(x2-x1))}
model<-gnlr(y=resp,mu=p, distribution="binomial", pmu=c(0,0.3,
1.1,7.7,0))
# pmu lists initial values of parameters
summary(model) # output summary
```

A IV Article: Adaptive Evolution of Reproductive Flexibility in a Collembola, Soumis à science

Thomas Tully,^{1†} Régis Ferrière^{1,2}

¹Laboratoire Fonctionnement et Évolution des Systèmes Écologiques, CNRS UMR 7625, École Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, 75230 Paris cedex 05, France.

²Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Arizona, Tucson AZ 85721, USA.

†To whom correspondence should be addressed. E-mail: tully@ens.fr

Phenotypic flexibility—the ability for an individual to adjust its phenotype in response to changing environmental conditions—seems to be the pinnacle of adaptation, yet the ‘Darwinian demon’ of super flexibility does not prevail. Discovering why raises a major challenge to evolutionary biologists. In the springtail *Folsomia candida*, strong genetic variation has evolved in the mean and flexibility of reproductive traits. ‘Super clones’ that combine the benefits of highly flexible reproductive investment, and larger offspring, diverged early in the species’ history, but their divergence has been constrained by the evolution of a genetic tradeoff between reproductive flexibility and longevity.

In a variable yet predictable world, organisms may use environmental cues to adjust their life-history traits. Ample evidence has now been mounted for the ecological benefits of such phenotypic flexibility (1-7). Yet the diversity of life histories currently observed within and between species shows that ‘super flexibility’ that would maximize individual fitness in all possible environments does not evolve (2, 3, 8). This raises the challenge of understanding how the evolutionary dynamics of life-history flexibility are structured and constrained – an area in which empirical knowledge is scarce (2, 7).

Flexibility is expected to evolve in fitness traits, of which egg size has received much attention as a form of pre-natal maternal care enhancing the chance of offspring survival under adverse environmental conditions (6, 7). Egg size along with clutch size and reproductive investment form a complex of functionally related traits (6, 9). Here we report that in the parthenogenetic (all-female) springtail *Folsomia candida* Willem (Collembola, Isotomidae) (10, 11), individuals are capable of remarkably fast adaptive adjustments of these traits in response to sudden environmental change. The comparative analysis of eleven genetically distinct clones (12) shows that, due to flexibility, the classical genetic tradeoffs expected between reproductive traits are not expressed; instead, genetic correlations revert dramatically between consecutive reproductive cycles started under different environmental conditions. Stable genetic tradeoffs must therefore be sought between reproductive flexibility and other life-history traits. A phylogenetic reconstruction reveals that two genetic clusters have diverged early in the evolutionary history of the species, along an axis of reproductive flexibility-longevity negative covariation. This macroevolutionary tradeoff is not reflected within each cluster, suggesting that distinct, or at least different genetic architectures are involved in the short-term versus long-term evolution of life-history decisions.

Flexibility in egg size, clutch size and reproductive investment have been studied in response to transferring individuals from crowded and dietarily restricted conditions to isolation and full feeding (10)(13). A marked decrease in egg size associated with increasing clutch size occurs 6 days after the release of crowding and dietary restriction (Fig. 1A & B)—a time lag that exactly equals the minimal inter-clutch interval (mean inter-clutch interval = 6.7 days, 95% confidence interval = [5.9, 8.9], n = 51). Clutches laid during the first period (P1, day 1 to 6) come from a reproductive cycle that began in the crowded-dietary restricted environment. Clutches laid during the second period (P2, from day 7 onward) are on average composed of smaller but more numerous eggs than in P1 (Fig. 1). Even those clutches laid during P1 follow a trend for larger size as the laying date advances (+2.9 eggs/day, $\chi^2_1 =$

8.9, $P = 0.003$). This suggests that reproductive traits can be adjusted even once the individual's reproductive cycle has started, as a result of channeling more energy into reproduction as soon as new resources become available (14). Thus, the limit to flexibility set by the time lag between sensing environmental cues and adjusting phenotypic traits (2) seems minimal.

Such flexibility is adaptive if bigger eggs associated with greater nutritional provisions result in larger larvae that survive better under poor environmental conditions (6). This is verified in *F. candida* (10). Springtails lay clutches in which mean offspring size is directly proportional to mean egg size (15), and under crowded conditions and food deprivation, egg size has a strong positive influence on early survival. In contrast, when isolated and fully fed, all nymphs reach maturity and egg size does not correlate positively with survival (16). This supports the hypothesis of adaptive egg size flexibility (17). Furthermore, egg size and clutch size are influenced by maternal reproductive investment, which is expected to evolve concomitantly (7, 18). Reproductive investment (19) is uniformly low among clones in period P1, and rises significantly in P2—a pattern that is also consistent with the hypothesis of adaptive flexibility (18).

In order to analyze the structure of variation of reproductive decisions among individuals, we begin with an examination of within-environment patterns. One of the basic tenets of life-history biology is that, for a given level of reproductive investment, egg size and clutch size variation are organized by a physiological tradeoff (7, 20, 21). We find that in P1, egg size is not correlated with clutch size, whereas in P2, contrary to the tradeoff assumption, females that produce larger clutches also lay bigger eggs (22)(10). Many studies have demonstrated a phenotypic tradeoff between offspring size and number (23), but few of them have controlled for underlying genetic differences between individuals (24)(25). When controlling for period, maternal size and genotype, the relations between egg size, clutch size and reproductive investment vanish (10). In contrast with this, we find strong genetic correlations between egg size and clutch size that differ radically between periods—from negative in P1 to positive in P2 (Fig. 2A). Genetic correlations between reproductive investment and egg size or clutch size are nonsignificant in P1, but are strongly positive in P2 (Fig. 2B, C)(26).

The great lability of genetic correlations between egg size, clutch size and reproductive investment is the consequence of flexibility in these traits, and an amount of genetic variation in flexibility that differs among traits (27). There is no genetic variation in egg size flexibility ($\chi^2_1 = 0.01$, $P = 0.92$) whereas there is strong genetic variation in the flexibility of reproductive investment (broad-sense heritability $h^2 = 34.5\%$, $95\%CI = [18.2, 49.8]$, $\chi^2_1 = 23.0$, $P < 0.0001$). In effect, the degree of flexibility in reproductive investment varies from no increase in clone BR to an 8-fold increase in clone US (Fig. 2B, C). Thus, whereas all genotypes show a similar response in egg size to environmental change, the degree to which clutch size is affected is not simply determined by a physiological trade-off with egg size, but also by the flexible response of maternal investment in reproduction. In genotypes producing consistently (i.e. on average across periods) bigger eggs, reproductive investment is more flexible (Fig. 3A), and disproportionately larger clutches are produced under favorable conditions, as permitted by a larger increase of reproductive investment.

This suggests that resource acquisition strategies may differ among clones (9, 28). According to this interpretation, under crowded conditions and food deprivation, genetic variation in resource acquisition is weakly expressed and only genetic variation in resource allocation is detected, leading to the negative genetic correlation between clutch size and egg size (Fig. 2A). In contrast, under isolated conditions and full feeding, genetic variation in resource acquisition is fully expressed, thus masking genetic variation in resource allocation and leading to positive correlations between egg size, clutch size and reproductive investment (Fig. 2). Such differences in resource acquisition strategies have been

hypothesized to involve long-term survival costs (29, 30). This hypothesis is supported by our data: the adult lifespan is shorter in clones that cumulate the benefits of high flexibility in reproductive investment and larger egg size in both periods (Fig. 3B) (31).

The adaptive picture emerging from our analysis is that of a convergent evolution of egg size flexibility, contrasting with the evolutionary diversification of flexibility in reproductive investment trading off with adult survival. A hierarchical cluster analysis made on the genetic values of egg size and reproductive investment highlights the existence of two genetically distinct reproductive strategies (Figs 2C, 4): a reproductively ‘super’ strategy that cumulates the benefits of larger egg size and highly flexible reproductive investment (clones DK, US, GM, PB, TO, WI) and an ‘infer’ strategy which produces small eggs in both periods and barely increases its reproductive investment in response to the environmental amelioration (clones BR, BV, HA, GB, AP). This genetic clustering shows remarkable congruence with the clones’ phylogeny (Fig. 4). The two reproductive strategies arose along two major branches of the evolutionary tree, and the distribution of genetic trait values measured in P2 (Fig. 2C) matches the tree structure almost perfectly. Thus, life history evolution in asexual species seems subject to profound genetic constraints (e.g. pleiotropic effects involving major genes) that could drive entire clades onto distinct regions of the adaptive landscape.

The macroevolutionary pattern is not reflected in the correlation structure within each reproductive strategy (Fig. 3B). Genetic variance-covariance between life-history characters can, therefore, depend on the phylogenetic scale at which they are observed. The long-term stability of a macroevolutionary tradeoff does not preclude instability of that tradeoff on a finer phylogenetic scale – an instability that might involve fast evolution of different underlying genetic networks. Our results demonstrate the pivotal link that the genetic integration of flexible phenotypes establishes between micro- and macroevolutionary processes (5, 32).

References and Notes

1. T. Piersma, J. Drent, *Trends in Ecology & Evolution* **18**, 228 (2003).
2. T. J. DeWitt, A. Sih, D. S. Wilson, *Trends in Ecology & Evolution* **13**, 77 (1998).
3. A. A. Agrawal, *Science* **294**, 321 (2001).
4. A. A. Agrawal, F. Vala, M. W. Sabelis, **159**, 553 (2002).
5. M. Pigliucci, *Ecology letters* **6**, 265 (2003).
6. C. W. Fox, M. E. Czesak, *Annual Review of Entomology* **45**, 341 (2000).
7. D. A. Roff, *Life History Evolution* (Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 2001), pp. 527.
8. N. A. Moran, **139**, 971 (1992).
9. G. de Jong, A. J. van Noordwijk, *American Naturalist* **139**, 749 (1992).
10. Materials methods and complementary analyses are available as supporting material on Science Online.
11. M. T. Fountain, S. P. Hopkin, *Annual Review of Entomology* **50**, 201 (2005).
12. Experiments were carried out using clones issued from different geographical origins: 9 from Europe (clones AP, BR, BV DK, GB, GM, HA, PB, TO) and 2 from North America (clones US, WI).
13. To mimic environmental amelioration, we isolated and fully fed 10 females of each clone from our laboratory populations subject to low ration (density ca. ~40-50 ind./cm², provisioned with ~1ug dried yeast/ind/week). Limited food provisioning was used in combination with crowding to create competitive interactions and to ensure that isolation was perceived as a release from competition for all transferred individuals. Complete isolation allowed for close monitoring of individual reproductive behavior (timing, egg number and egg size) during the two subsequent weeks. All reported effects of environmental amelioration are imputable to simultaneous social and dietary change; teasing these factors apart is an open issue warranting further investigation.
14. Because there is no monitoring the reproductive characteristics of an individual in high density populations, a simple control experiment was not feasible. Therefore, to test for any confounding effect of age with environmental change, we performed a complementary experiment whereby 20 individuals from each clone have

- been isolated and reared at two contrasted rations. For females of the same age than those of the reported experiment (younger than four months old), when controlling for clone, treatment and body size, we found no effect of age on egg size ($X^2 = 0.39$, $P = 0.53$) and a negative effect of age on clutch size (-0.2 egg/day, $X^2 = 82$, $P < 0.0001$) which is much smaller than, and opposite to, the one measured in the main experiment ($+4.7$ eggs/day, $X^2 = 88$, $P < 0.0001$).
15. Body length measured within 20h after birth on 210 neonates from 41 clutches is positively correlated to the mean volume of the eggs from which they hatched ($\text{cor} = 0.64$, $95\% \text{CI} = [0.41, 0.79]$, $t_{39} = 5.2$, $P < 0.0001$).
 16. Survival from birth is affected by dietary and crowding conditions: the mortality rate is multiplied by 12 under high density and starvation ($95\% \text{CI} = [6.2, 23.4]$, $|z| = 7.3$, $P < 0.0001$). Moreover, survival is affected by an interaction between dietary/crowding conditions and mean egg size ($|z| = 2.8$, $P = 0.005$). During the first month of life, under high density and food deprivation, clutches containing larger eggs produce individuals surviving longer than clutches with smaller eggs ($|z| = 3.94$, $P < 0.0001$): a 10% increase in egg volume decreased the mortality rate by 31% ($95\% \text{CI} = [17\%, 43\%]$). In contrast, under low density and full feeding variation in egg size does not affect survival ($|z| = 1.02$, $P = 0.31$).
 17. C. W. Fox, M. S. Thakar, T. A. Mousseau, *American Naturalist* **149**, 149 (1997).
 18. D. W. Winkler, K. Wallin, *American Naturalist* **129**, 708 (1987).
 19. Reproductive investment was defined as the mean percentage of body volume that a female invests per day in the production of eggs. It therefore corresponds to a "rate of relative reproductive investment". Genetic values of reproductive investment take into account the females that did not lay eggs during either or both periods.
 20. C. C. Smith, S. D. Fretwell, *American Naturalist* **108**, 499 (1974).
 21. B. Sinervo, P. Licht, *Science* **252**, 1300 (1991).
 22. Egg size is related to clutch size (controlled for mother's body length) differently among periods ($X^2 = 6.14$, $P = 0.013$). In P1, egg size and clutch size are not correlated ($\text{cor} = -0.19$, $95\% \text{CI} = [-0.44; 0.08]$, $t_{52} = -1.4$, $P = 0.165$), whereas in P2 females that lay larger clutches also produce bigger eggs ($\text{cor} = 0.27$, $95\% \text{CI} = [0.065; 0.455]$, $t_{86} = 2.61$, $P = 0.010$).
 23. F. J. Messina, C. W. Fox, in *Evolutionary ecology. Concepts and case studies* C. W. Fox, D. A. Roff, D. J. Fairbairn, Eds. (Oxford University Press, Oxford, 2001) pp. 113-127.
 24. M. E. Czesak, C. W. Fox, *Evolution* **57**, 1121 (2003).
 25. Despite a high level of intra-clutch egg volume variation that account for 50% of total variance, egg volume expressed in each environment was found to be highly heritable ($h^2 = 27.8\%$, $X^2 = 49.8$, $P < 0.001$). During P1 no genetic variation was detectable on clutch size ($X^2 = 0.79$, $P = 0.37$) whereas in P2 this trait was found to be heritable ($h^2 = 42\%$, $95\% \text{CI} = [14; 67]$, $X^2 = 10.6$, $P = 0.001$). Reproductive investment is heritable in P2 ($h^2 = 47.9\%$, $95\% \text{CI} = [30.1; 63.4]$, $X^2 = 34.6$, $P < 0.0001$) but not in P1 ($X^2 = 0.26$, $P = 0.88$).
 26. C. M. Sgrò, A. A. Hoffmann, *Heredity* **93**, 241 (2004).
 27. S. Stearns, G. de Jong, B. Newman, *Trends in Ecology & Evolution* **6**, 122 (1991).
 28. B. Ernande, P. Boudry, J. Clobert, J. Haure, *Journal of Evolutionary Biology* **17**, 342 (2004).
 29. D. Reznick, A. P. Yang, *Ecology* **74**, 2011 (1993).
 30. D. Reznick, L. Nunney, A. Tessier, *Trends in Ecology & Evolution* **15**, 421 (2000).
 31. The genetic values of relative risk of mortality are positively correlated to genetic values of (1) reproductive flexibility (cf. Fig 3B) and consequently also to (2) mean egg size ($\text{cor} = 0.75$ [$0.37; 0.94$], $t_9 = 3.9$, $P = 0.003$), and (3) reproductive investment in P2 ($\text{cor} = 0.83$ [$0.46; 0.95$], $t_9 = 4.46$, $P = 0.001$) but not to that of reproductive investment in P1 ($t_9 = -0.13$, $P = 0.90$).
 32. J. F. Le Galliard, J. Clobert, R. Ferrière, *Nature* **432**, 502 (2004).
 33. T. Tully, C. D'Haese, M. Richard, R. Ferrière, *Pedobiologia* **submitted** (2005).
 34. We thank J. Clobert, J. Ellers, B. Ernande, J.F. Le Galliard, M. Nacham, D. Promislow and S. Stearns for helpful comments on the manuscript; A. Bedos, L. Deharveng, C. D'Haese, M. Draney, G. Ernsting, J. Najt, A. Provensal, G. Vannier, C. Weidick Kærsgaard for providing the clones of *F. candida*; T. van Dooren for statistical advice; A. Drzemczewski for technical assistance. Financial support received from the EU RTN ModLife, from the program Biological Invasions funded by the French Ministry for Research and Education and from the NSF REU Biomath program.

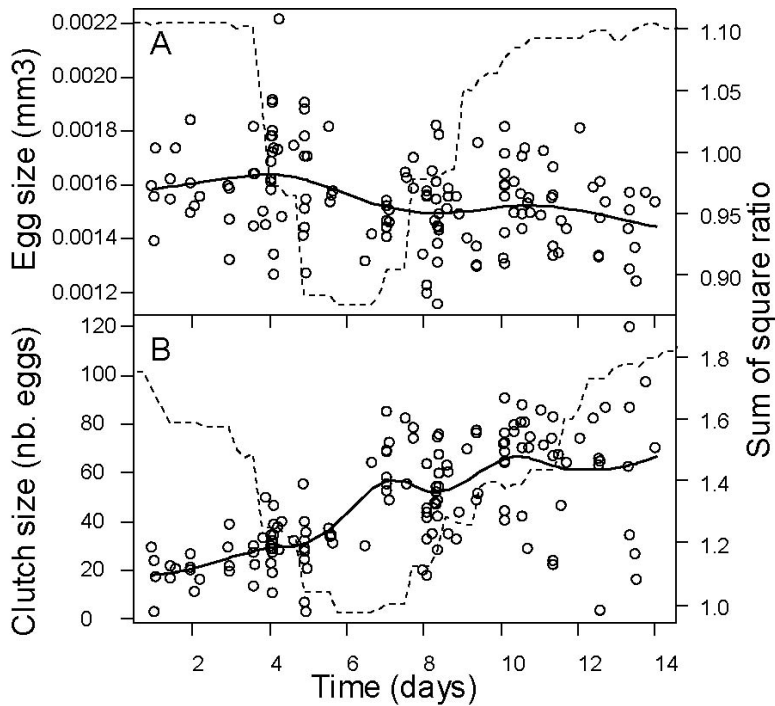


Fig. 1 Individual egg size (mean per clutch, A) and clutch size (B) after release of crowding and dietary restriction. Both variables are controlled for maternal body length and scaled to a 1.6 mm long female. Solid line: smooth spline function fitted to data. The effect of time on egg size and clutch size was analyzed by contrasting two linear models: *Egg size (or Clutch size) ~ Body length + Clone + Time* (model 1), and *Egg size (or Clutch size) ~ Body length + Clone + Period* (model 2). Model 2 involved two consecutive periods spanning the first 14 days of the experiment. By varying the limit between the two periods between 1 and 14 days, we could examine whether specific parameterization of model 2 made discrete time (period effect) a better model than continuous time. The two models were compared by means of the ratio of the residual sum of square (dashed line). For both egg size and clutch size, model 2 became superior to model 1 when the period limit was close to 6 days (dashed line under dotted gray line: ratio < 1). Egg volume and clutch size, controlled for clone effect and maternal body length, are on average respectively 7.5% smaller ($\chi^2_1 = 30.7$, $P < 0.0001$) and 231% larger ($\chi^2_1 = 89.8$, $P < 0.0001$) in the second period.

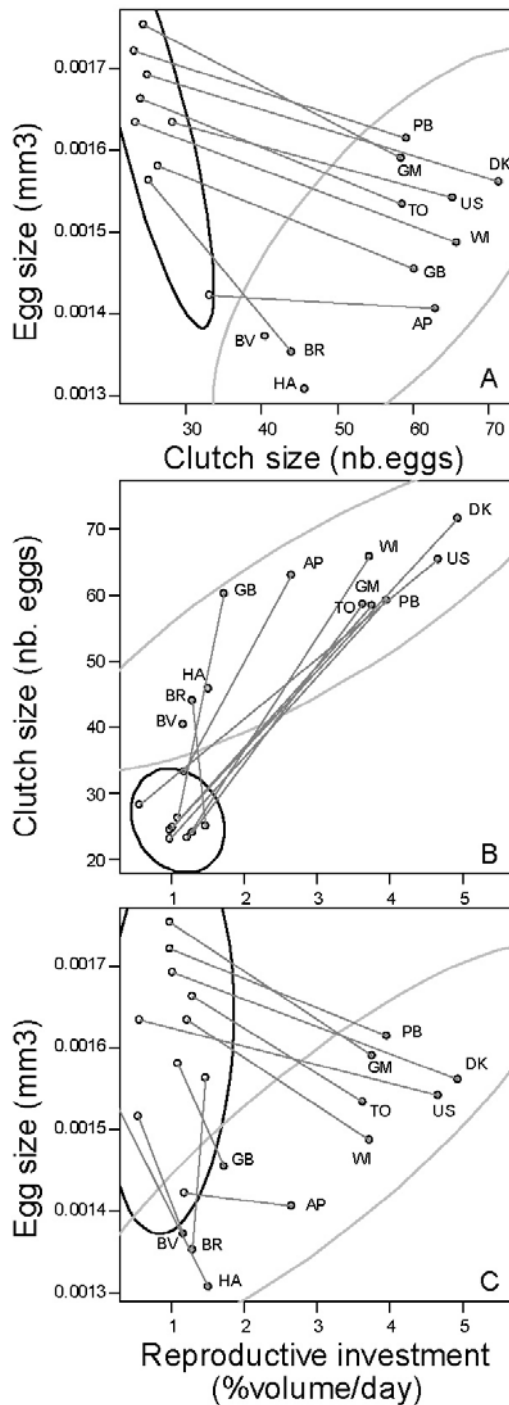


Fig. 2 Genetic correlations between egg size, clutch size, and reproductive investment. Open circles: data from period P1, closed circles: P2. Grey lines: bivariate reaction norms. 90% concentration ellipses are indicated. Clutch size and egg size measurements are corrected for maternal body length (standardized to 1.6 mm). Only data from P2 have been plotted for clones BV and HA because they laid too few eggs in P1. (A) The sign of genetic correlations between egg size and clutch size reverse between periods: negative in P1 ($\text{cor} = -0.81 [-0.96, -0.31]$, $t_7 = -3.64$, $P = 0.008$), positive in P2 ($\text{cor} = +0.70 [0.18, 0.92]$, $t_{10} = 2.96$, $P = 0.016$). (B) Genetic values of clutch size and reproductive investment (%volume that a female invests in reproduction per day) are not correlated in P1 ($\text{cor} = -0.18 [-0.75, 0.55]$, $t_7 = -0.48$, $P = 0.64$) but are positively correlated in P2 ($\text{cor} = +0.84 [0.49, 0.96]$, $t_9 = 4.71$, $P = 0.001$). (C) Genetic values of egg size and reproductive investment are not correlated in P1 ($\text{cor} = +0.14 [-0.50, 0.68]$, $t_9 = 0.44$, $P = 0.67$) but are positively correlated in P2 ($\text{cor} = +0.87 [0.56, 0.96]$, $t_9 = 5.22$, $P = 0.0005$).

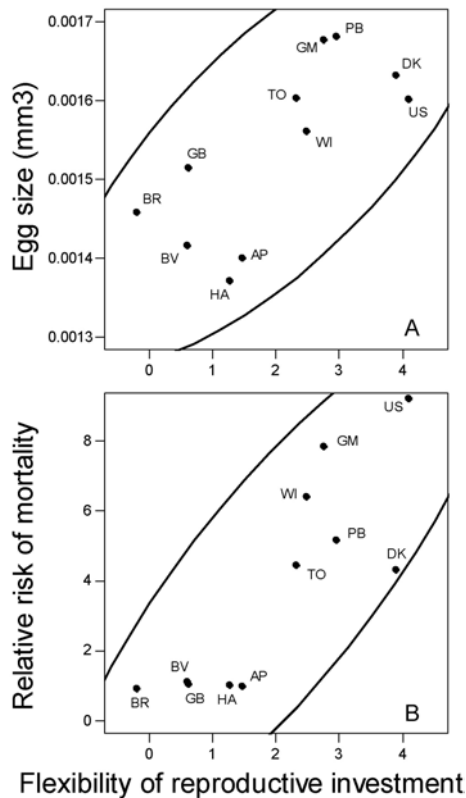


Fig. 3 Correlation structure of genetic values of reproductive investment flexibility (genetic change in reproductive investment between periods expressed as mean % of volume that a female invests in reproduction per day) with genetic values of (A) mean egg size (over both periods) ($\text{cor} = +0.74$ [0.26, 0.93], $t_9 = 3.36$, $P = 0.008$), and (B) mortality risk (relative to clone AP) ($\text{cor} = +0.84$ [0.48, 0.96], $t_9 = 4.6$, $P = 0.001$). 90% concentration ellipses are indicated. Genetic values of relative risk of mortality come from an independent experiment where the longevity of 20 individuals per clone was measured and analyzed through a Cox proportional hazard model. Mortality risk differs among clones ($\chi^2_{11}=109$, $P = 0$).

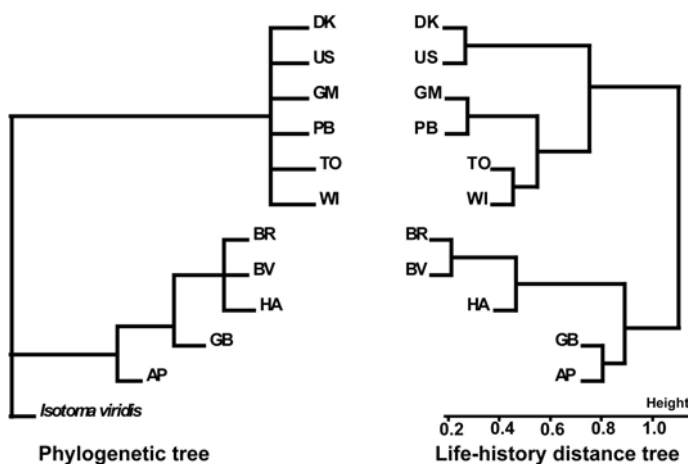


Fig. 4 Comparative analysis of 11 clones: phylogeny (left) and life-history distance tree (right). The phylogeny is a strict consensus of 46 trees computed with Winclada using 47 bands from 5 RAPD primers and the sequence characters of 18S and 28S DNA (33). The springtail *Isotoma viridis* Bourlet was used as an outgroup. The topology of the upper clade is unresolved due to contradictory signals—not because of lack of genetic variation. The life-history distance tree comes from a hierarchical cluster analysis (*hclust* function in program R 1.9, single linkage method) performed on the genetic values (centered and standardized) of egg size and reproductive investment expressed in P2 (cf. Fig. 2C).

A IV 1) Supplementary material

A IV 1 a) *Folsomia candida* as a model organism

○ Basic biology

Folsomia candida Willem 1912 (Collembola, Isotomidae) is a widespread springtail that is typically found in leaf litter, in caves (1, 2) and also in anthropic environments such as the dirt of plant pots (3). Its natural density is known to vary greatly (4). In laboratory conditions, populations of this standard soil microarthropod (5) are composed only of females that reproduce parthenogenetically (3, 6). Individuals mature within about two weeks and lay a clutch about once a week (7). Clutch size varies from less than ten eggs to more than 100; body length (8) and ration (3, 9, 10) are what influences egg production the most.

○ Rearing methods

Eleven genetically distinct isofemale clonal populations are maintained in our laboratory (11). Typical container is a polyethylene vial (diameter 52 mm, height 65 mm) filled with a 30 mm layer of plaster of Paris. Food is provided in the form of small pellets of a mixture of dried yeast and agar in standardized concentration and volume (5000 µL water + 80 mg agar + 800 mg dried yeast, to produce pellets of 2 µL). Note that all our stock cultures are provided the same amount of food. Stock cultures and experimental populations are kept in incubators at $21 \pm 0.5^\circ\text{C}$, with a 12h:12h light:dark cycle and constant humidity (~100%).

A IV 1 b) Experimental designs and associated statistical methods

We studied genetic components of phenotypic flexibility by experimentally manipulating the environment for these eleven clones obtained from a wide geographical range (11). We used as many clones as could feasibly be monitored; this large number allowed us to treat the clone effect as a random effect in all statistical analyses.

○ Experiment 1: Egg size and offspring survival

Design

The relation between egg size and juvenile quality was assessed by measuring the survival of neonates in two contrasted environments, one with no food provided and high density (20 ind. /box) and the other with *ad libitum* food provided and low density (1 ind. /box). The first treatment was carried out by isolating immediately after birth, for each clone, four cohorts of 21 ± 1 neonates issued from four clutches laid by four females (only three clutches could be used for clones GB and BR, and only one for clone BV). In the second treatment, for each clone, 10 neonates issued from at least four different clutches were isolated in fresh rearing boxes containing food pellets, thus providing unlimited food to the springtails. For both treatments, boxes were inspected each days for monitoring longevities of the 811 individuals of the first treatment and of the 110 individuals of the second one.

Analysis

Because we were unable to assign an individual egg size to each neonate, only the mean egg size of the corresponding clutch could be analyzed as a factor of juvenile survival; intra-clutch egg size variation was not taken into account. Early mortality (first month) was analyzed with a Cox proportional hazard model (Coxph function from package survival, R1.9 12). The potential for mortality correlation among groups of sisters within clutches was taken into account by computing a robust variance (*cluster* option). Ration was treated as a stratum variable (*strata* option) to allow for non proportional hazard when comparing the effect of egg size between the two ration treatments (13).

○ Experiment 2: Environmental change and individual response

Design

For each clone, the preparatory stage of the experiment involved four replicates of high density populations provided with low ration during three months.

The experiment began by sampling ten adult females **for each clone** taken from the four populations. Our sampling protocol was chosen to minimize the effect of several uncontrolled sources of heterogeneity, including size and age. We reduced interference by uncontrolled factors by sampling young adults of similar size in all clones (size homogeneity between clones: $F_{10,99} = 1.52$, $P = 0.14$; mean body length = 1.47mm, SE = 0.021). Also, our experimental design causes the effect of environmental change to be confounded with that of age. We therefore collected a large amount of data on egg size from clutches laid by 220 individuals of known age in order to analyze the effect of age on egg size.

Measurements

Each female was kept in individual rearing boxes. A pellet of dried yeast was provided and replaced regularly to ensure unlimited access to food. All boxes were inspected twice daily (morning and evening) during two weeks. Each reproductive event was assigned the mean time of the interval during which it occurred. When inspecting each box, eggs just laid were counted; clutches were photographed for later egg measurement; boxes were returned to randomized positions in the incubators. Digital pictures and image processing were also used to measure the body length of all females (from the tip of the head to the rear of the abdomen) at the start and end of an experiment. Image processing was carried out using the ImageJ software (14). The repeatability of egg size measurement was assessed by measuring 67 eggs coming from four clutches, each of which was recorded four times yielding a total of 268 measurements. Likewise, 400 measurements of body length were obtained from ten pictures of eight adults, analyzed five times. Repeatability (15) scored very high for both egg size (79%), and body length (96%). We define *clutch size* as the total number of eggs laid in a clutch. Overall, 93 of the 110 sampled females laid at least one clutch; 51 laid two clutches. Of the 6627 eggs that have been laid in the 144 clutches, 3377 have been measured. Each clutch was assigned a corresponding maternal length on the basis of the assumption of linear growth of the mother during the experiment. Maternal volume was estimated by using its body length and the relationship between body length and abdomen width estimated in an independent dataset where body length and abdomen width were measured on 68 individuals (abdomen width (mm) = $0.272 \times \text{body length (mm)} - 0.0536$, $R^2 = 0.87$), and using a cylindrical approximation of collembolan shape.

To further account for a female's reproduction schedule and for the females that did not reproduce during one or both periods, we defined the rate of relative reproductive investment (also called "reproductive investment" in the paper) as the total volume of eggs produced by a female during each period, divided by the duration of the period and by the mean body volume of the female during this period ($\% \text{volume} \cdot \text{day}^{-1}$). The volume of eggs was estimated by the product of egg number by measured mean egg volume.

Analysis

"Egg size", "clutch size" and "reproductive investment" were analyzed by using hierarchical mixed linear models (*lme* function of *nlme* package, R 1.9) with "clone", "mother" (for egg size, clutch size and reproductive investment) and "clutch" nested within "mother" (for egg size) as random effects (16). Broad sense heritabilities of the traits and of their flexibility were calculated by using models with "clone" and interaction between "clone" and environment ("period") treated as random effects, and by comparing the variance component of these effects to the total variance. "Clutch size" (for the analysis of egg size), "mother's body volume" and "period" were treated as fixed effects.

Backward selection process was used to simplify the full model including interactions between factors (16). Statistical significance was assessed with log likelihood ratio tests (16) and model parameters were estimated by the restricted log-likelihood method. Underlying assumptions regarding models with mixed effects were checked using methods provided in the *lme* package (16). Variables were transformed to fulfill the assumptions whenever necessary. Robustness of the results to outliers was tested by removing observations with large Cook distances (17). Only robust results are presented here. As a consequence, in some instances the number of observations used in the analysis is less than the number of observations. We obtained mean values and confidence intervals for significant heritabilities by bootstrapping (1000 resampling with replacement, 18). In the models used for computing heritabilities, variables of interest are corrected for mother body size; heritability being defined here as the proportion of genetic to expected phenotypic variance when body size is kept constant between individuals.

In order to study the correlations between egg size and clutch size we have first modeled “egg size” and “clutch size” through two independent linear mixed model with “mother’s body length” and “period” as fixed effects and an interaction between “clone” and “period” as a random effect. We found both traits to be dependent on an additive effect of “body length” and “period” (Fig. 1). For each period, global phenotypic correlations between “egg size” and “clutch size” were studied using the value of these variables corrected for maternal body length and scaled to 1.6 mm long females (mean size of females during the experiment, Fig. 2 A). Within-clone phenotypic correlations were computed using the models residuals, therefore controlling not only for body length but also for genetic differences between clones (Fig. 2 B). Finally genetic correlations were studied on the genetic values for each trait computed as the sum of the residuals of the random parts of the models with the predicted value of the dependent variable for a 1.6 mm long female in both periods. The same method was used to compute genetic values for the reproductive investment in both periods (Fig. 2 B, C). Genetic values of the flexibility of reproductive investment (Fig. 3) were computed as the difference in the genetic values of this trait between both environments.

○ Figures

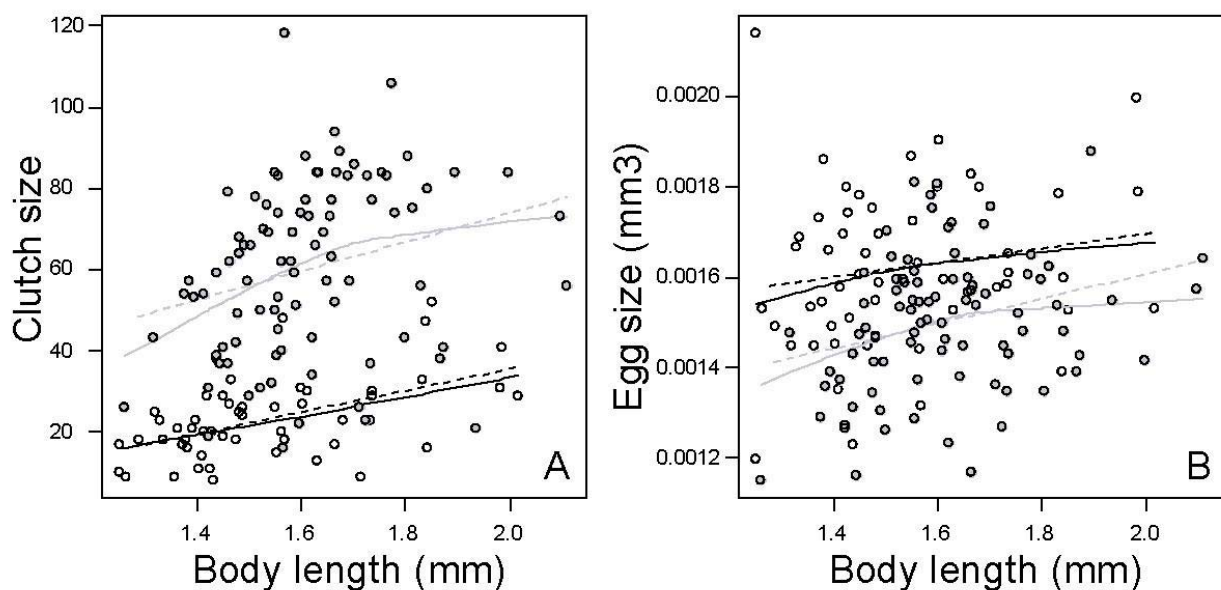


Fig. S1. Clutch size (A) and egg size (B) as a function of maternal body length per period (open

circles: P1; gray, filled circles: P2). Egg size increases with maternal body length ($\chi^2_1 = 4.73$, $P = 0.029$) similarly in both periods ($\chi^2_1 = 0.819$, $P = 0.36$). These relations are underlined by a regression line (dotted lines) and a lowess nonparametric regression line (continuous line) for both P1 (black) and P2 (gray).

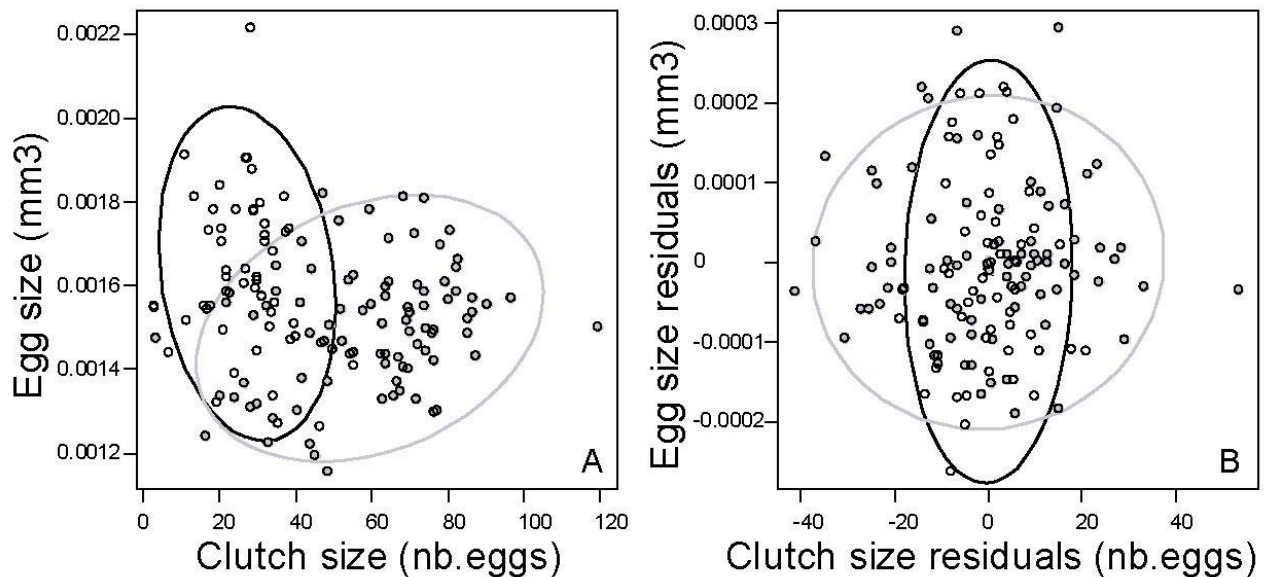


Fig. S2. Phenotypic correlation structure of egg size and clutch size. Open circles: data from period P1, closed circles: P2. 90% concentration ellipses are indicated for both periods. For each measurement of clutch and egg size, maternal body length is taken into account and standardized to 1.6 mm. (A) Global phenotypic correlations between egg size and clutch size. In P1, egg size and clutch size are not correlated ($\text{cor} = -0.19$ $[-0.44, 0.08]$, $t_{52} = -1.4$, $P = 0.165$), whereas in P2 females that lay larger clutches also produce bigger eggs ($\text{cor} = 0.27$ $[0.065, 0.455]$, $t_{86} = 2.61$, $P = 0.010$). (B) Within-clones residuals for egg size and clutch size are not correlated, neither in P1 ($t_{52} = 0.005$, $P = 0.99$) nor in P2 ($t_{86} = 0.33$, $P = 0.74$).

○ References

1. S. Milne, *Proceedings of the Royal Entomological Society of London* **35A**, 133 (1960).
2. M. Potapow, *Isotomidae*. W. Drunger, Ed., Synopses on Palaearctic Collembola (Staatliches Museum für Naturkunde Görlitz, Görlitz, 2001), pp. 603.
3. V. G. Marshall, D. K. M. Kevan, *The Canadian Entomologist* **94**, 575 (1962).
4. S. P. Hopkin, *Biology of the springtails (Insecta: Collembola)* (Oxford University Press, Oxford, 1997), pp. 330.
5. M. T. Fountain, S. P. Hopkin, *Annual Review of Entomology* **50**, 201 (2005).
6. M. B. Usher, C. F. Stoneman, *Journal of Biological Education* **11**, 83 (1977).
7. C. Palevody, *Pedobiologia* **14**, 196 (1974).
8. E. M. Stam, M. A. Van De Leemkule, G. Ernsting, *Oecologia Berlin* **107**, 283 (1996, 1996).
9. P. A. M. Vanamelsvoort, M. B. Usher, *Pedobiologia* **33**, 61 (1989).
10. R. Draheim, O. Larink, *Acta Zoologica Fennica* **0**, 168 (1995, 1995).
11. T. Tully, C. D'Haese, M. Richard, R. Ferrière, *Pedobiologia* **submitted** (2005).
12. R. Ihaka, R. Gentleman, *Journal of Computational and Graphical Statistics* **5**, 299 (1996).

13. T. M. Therneau, P. M. Grambsch, *Modeling survival data. Extending the Cox model*. K. Dietz, M. Gail, K. Krickeberg, J. Samet, A. Tsiatis, Eds., Statistics for Biology and Health (Springer-Verlag, New York, 2000), pp. 350.
14. W. Rasband. (National Institutes of health, 2003).
15. C. M. Lessells, P. T. Boag, *Auk* **104**, 116 (1987).
16. J. C. Pinheiro, D. M. Bates, *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*, Statistics and computing (Springer-Verlag, New York, 2000), pp. 528.
17. G. P. Quinn, M. J. Keough, *Experimental design and data analysis for biologists* (Cambridge University Press, Cambridge, 2002), pp. 537.
18. B. F. J. Manly, *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*. C. Chatfield, J. Zidek, Eds., Text in Statistical Science (Chapman & Hall, Boca raton, 1997), pp. 399.

A V Articles : *Functional response: rigorous estimation and sensitivity to genetic variation in prey (Oikos, sous presse)*

Thomas Tully¹, Phillip Cassey^{1,2} & Régis Ferrière^{1,3}

1. Laboratoire d'Écologie, CNRS UMR 7625,
École Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm 75005 Paris

2. School of Biosciences
University of Birmingham, Edgbaston B15 2TT, UK

3. Department of Ecology and Evolutionary Biology,
University of Arizona, Tucson AZ 85721, USA

Corresponding author: Thomas Tully, ph.: +33 1 44 32 34 84, fax: +33 1 44 32 38 85, email:
tully@biologie.ens.fr

Total number of words: 5929

Total number of characters: 31268

A V 1) Abstract

Holling's type II functional response is a cornerstone of community ecology and coevolutionary theory. The so-called disc equation is the most widely used model of the type II response, yet thus far no proper experimental assessment of fundamental issues has been achieved in any single system. These issues include whether the assumptions of the disc equation are fulfilled, whether the disc equation yields accurate estimates of predation-related individual traits, and whether genetic differences between prey can account for differences in disc equation parameters. This paper provides a rigorous approach to all these questions. The functional response of the predatory mite *Pergamasus crassipes* on three genetically distinct clones of the springtail *Folsomia candida* was measured at six levels of prey density in controlled conditions where prey number and arena size were concomitantly manipulated. A crucial assumption of Holling's disc equation was fulfilled by maintaining a constant prey density for the entire experimental period of predation. The timing of each attack and capture as well as the duration of the handling time was recorded by constant observation. We used all of the following methods to calculate functional response curves: (1) indirect estimation of the disc equation's parameters from the number of prey killed by the end of each experimental run; (2) direct estimation of the parameters via a unique protocol of constant observation; and (3) independently deriving a function based on direct measurements of attack rate and attack success. The basic assumptions of the disc equation were globally fulfilled. The estimations of the functional response's parameters (type 2) were remarkably congruent across approach (1) and (2). A single genetic effect was detected - the attack rate of one clone differed significantly from that of the other two - whereas a direct comparison of functional response across clones failed to reveal genetic variation.

Keywords: predation, functional response, disc equation, density dependence, searching rate, handling time, clonal variation.

A V 2) Introduction

The number of prey that an individual predator kills is a function of prey density and is known as the functional response (Holling 1966). Since the early work of Solomon (1949) and Holling (1959, 1959), functional responses have played a pivotal role in understanding predator-prey interactions and their ecological and evolutionary consequences on community dynamics. There are three basic curve types (types I, II, and III), and many modifications (Jeschke, Kopp and Tollrian 2002), that have been used to model the functional response (Holling 1966). Type I assumes that the number of prey killed per predator increases linearly with increasing prey density until a maximum is reached. This model is often found to be biologically unrealistic, yet it remains fundamental to predator-prey coevolutionary theory. Most ecological interest in functional responses has involved types II and III, in which saturation of the number of prey eaten occurs gradually in response to increasing prey density. Type III differs from type II in the assumption that the deceleration of the predation rate is preceded by an accelerating phase at low prey density. Type II functional responses have figured prominently in behavioural ecology, serving as the basis for foraging theory (Abrams 1990, Stephens and Krebs 1986). Similarly, mechanistic models of population dynamics of resource-limited consumers (e.g. Williams 1980) and predation-limited prey (Hassell 1978) have made extensive use of type II functional responses. In spite of the existence of several models to explain type III functional response (Abrams 1982, Abrams 1987) and although the eco-evolutionary consequences of this type of functional response on predator-prey dynamics can be dramatic (see Dercole and Ferrière 2004?) type III response remains poorly empirically tested.

Holling (1959, 1959) introduced the so-called disc equation as a general model of gradually saturating functional responses. The disc equation (drawing its name from a series of early experiments in which blindfolded humans 'preyed' on sandpaper discs) attributes the gradual saturation in the number of prey eaten per predator to the fact that the time available for searching for prey is progressively usurped by the time required to handle prey. The disc equation is given by:

$$N_e = \frac{aNT}{1 + aNT_h}$$

where N_e is the number of prey eaten during the total exposure time T , and N is prey density. The equation is parameterized by a , the instantaneous searching rate, and T_h , the mean handling time per prey (further detail in Table 1). The disc equation and related functions have received wide acceptance as appealingly simple models of functional response, and are the foundation of a frequently used paradigm in ecology and evolutionary biology (e.g. Crawley 1983, e.g. Hassell 1978, Williams and Juliano 1996).

The relationship between the disc equation and actual measurements of functional responses has been somewhat paradoxical (Abrams 1990). Although the disc equation has appeared to provide an adequate fit for most functional response measurements, the values of a and T_h as estimated from functional response curves seldom match those determined from direct behavioural observations. These discrepancies cast serious doubt on the predictive power of the disc equation as a model for ecological or evolutionary projections. In this paper we suggest, and evaluate, possible reasons for these discrepancies. Notably, these reasons include: (i) data to which the disc equation is fitted are inappropriate, (ii) the biology of the predator-prey system violates basic assumptions of the disc equation model, (iii) fitting of the disc equation provides too little statistical power to yield accurate parameter estimates, (iv) disc equation parameter estimation is influenced by heterogeneity in the data generated e.g. by behavioural variation in prey or predators. The last issue also raises the question of whether the disc equation is appropriate for detecting variation in predation-related individual traits. This is a critical question when variation may be genetically based, and different prey or predator genotypes are being compared to determine which is the most effective at escaping a particular predator or killing a particular prey (Kabissa, Yarro, Kayumbo and Juliano 1996, Nannini and Juliano 1998, Russo 1986, Thompson 1975). Aphids for instance show considerable genetic variation in

producing winged morphs that escape predators (Braendle and Weisser 2001, Weisser, Braendle and Minoretti 1999). It is also critical to know what their evolutionary success may be in a given environment (Houck and Strauss 1985, Juliano and Williams 1985, Livdahl 1979, Yoshida, Urabe and Elser 2003), and how it would be affected by environmental change (Messina and Hanks 1998, Song and Heong 1997)(Smith 1994).

Hypothesis (i) is likely to be particularly relevant, given that the disc equation has been promoted, even in strictly inappropriate circumstances (Fan and Petitt 1994, Fan and Petitt 1997). These circumstances include the common practice of allowing prey density to deplete during the exposure time (see Juliano 2001 for a review). In fact, the disc equation makes no sense if prey density varies during the course of a predation episode (Abrams 1990). Nevertheless, this is commonly the case in most previous experiments, for which proper data analysis should involve fitting more complex equations (Juliano 2001, Rogers 1972). In the present paper we apply a rigorous experimental setup where prey density is maintained as a constant in order to investigate how accurate parameter estimation is compared to direct measurements on individuals, and how sensitive the disc equation parameters are to genetic variation in prey. Moreover, we have also addressed the issue whether prey number and patch size affect functional response in addition to prey density. We used the mite *Pergamasus crassipes* (Linne, 1758) as a predator, and three genetically distinct clones of the springtail *Folsomia candida* (Willem, 1902) as prey.

A V 3) Material and methods

○ Experimental procedure

The experiments took place at the Biological Field Station of the École Normale Supérieure (Foljuif, Nemours, Seine-et-Marne, France). Adult predatory mites of the species *Pergamasus crassipes* were collected from leaf litter in the deciduous forest around the station one day prior to starting the experiment. The mites were individually kept in plastic rearing boxes (2×2×2cm) and starved overnight to standardize their level of hunger. Each mite was used only once. In order to individualize each mite in the statistical analysis, a unique code was attributed to each mite-trial. Experiments were carried out with three clones (DK, GB & TO) of the blind and strictly parthenogenetic collembolan *Folsomia candida* which were chosen *a priori* for their dissimilar life history traits and different geographical origins (Tully 2004). Young adult collembola of equal size were used in all experiments in order to prevent simple effects of prey size/volume from influencing the form of the predation response. For each collembolan clone, prey were randomly selected from three replicated populations that were clonally descended from the same single female and had been maintained in laboratory-standardized conditions for several months.

Prey density was manipulated by varying both the number of prey per arena (1, 2 or 4) and the size of the arena (70, 140, 280, 560 cm²). This protocol provided six levels of surface density whose relative values are 1, 2, 4, 8, 16 & 32 (Table 2). For each treatment level (number of prey × surface of the arena) the experiment was replicated 24 times (8 times per clone), giving a total of 288 trials. The arenas were made from 5 cm high circular plastic boxes with 1cm thick plaster of Paris bases. The plaster base was smoothly surfaced with a thin black layer of clay, charcoal and ink which provided a good background contrast for behavioural observations. Both predators and prey remained exclusively on these experimental surfaces which were cleaned with a wet brush after each trial. Experiments took place at room temperature (~20°C) and under constant lighting.

After the springtails were placed in an arena, a randomly chosen mite was introduced and its behaviour was monitored over a one hour period. Although the vulnerability of a prey could possibly change during the course of an experiment and vary between preys, we did not follow nor study the individual behaviour of the prey. The successive times at which predatory events occurred were recorded; two types of predatory events were distinguished: an *unsuccessful attack* occurred when a mite encountered a springtail and unsuccessfully attempted to catch it; and a *successful attack* occurred when a mite successfully captured and killed a springtail. Handling times were also measured, as intervals

between a successful attack and the time when the mite ceased eating or handling its prey item. In order to keep prey density constant during the course of the experiment, each time a collembolan was successfully attacked, a new one from the same clone was introduced to the arena. A preliminary experiment helped us to adjust both the levels of prey density and the duration (one hour) of the trials so that an encounter between prey or between a prey and a predator are sufficiently rare to avoid to much effect of interaction between prey or of predator satiation (in every treatment of our experiment, the mites continued to search for prey at the end of each trial).

○ Statistical analysis

All the analyses were conducted in version 1.8 of the software R (Ihaka and Gentleman 1996). Complex models were simplified by an automatic backward selection process (*stepAIC* function). Effects were tested by comparing nested models and using Log likelihood ratio tests. Model parameters were estimated with restricted maximum likelihood methods (Pinheiro and Bates 2000). Additive effects of the number of prey, or size of the arena, with prey density were tested by comparing a model with density alone with a model with both density and number of prey, or density and size of the arena, as dependent variables.

Functional response and disc equation fitting. Functional response analysis raises the issue of distinguishing types II and III. This can be done by fitting a quadratic curve on the proportion of prey eaten in relation to prey density. The sign of the slope near the origin (density = 0) enables determining the type of the functional response (positive slope: type III function; negative slope: type II, Juliano 2001, Trexler, McCulloch and Travis 1988). As most type III responses are expected to manifest only at very low prey densities (Hassell, Lawton and Beddington 1977, Juliano 2001), we ensured, using a preliminary experiment, that three of the six prey density treatments described above fell within the low-density range. For the lowest densities, the mean number of captured prey per mite is lower than one. Therefore, for these densities, time spend handling prey is negligible compared to time spend searching for prey.

Because our experimental design maintains, through replacement, a constant prey density it is possible that a mite can eat more prey than the number of prey maintained in the arena at any one time. Therefore, the proportion of prey eaten was defined by choosing a virtual reference surface which preserved the relative values of prey densities tested but that was sufficiently large to ensure that the number of prey eaten by a predator never exceeded the expected number of prey present (Table 2). The reference surface was chosen as twice the largest arena surface, that is to say as $2 \times 561.5 \text{ cm}^2 = 1123 \text{ m}^2$. The corresponding relative densities (2, 4, 8, 16, 32 & 64) in Figures 2 and 3 correspond successively to 17.8, 35.6, 71.2, 142.4, 284.9 and 569.8 prey/m². A generalised mixed model (*glmpQL* function, link = logit, R statistical package) was fitted to the binomial data (captured or not captured) in order to model this calibrated proportion with terms for clone and prey density, density squared, and density cubed as covariates and the code attributed to each mite as a random effect (Venable and Ripley 1999). Significance of continuous fixed variables were tested with *t*-tests and that of clone with a likelihood ratio test. The sign of the estimated parameters of the logistic regression was used to determine the type of the functional response. A nonlinear model was used to estimate the parameters *a* and *T_h*.

Instantaneous searching rate, *a*. Directly measuring parameter *a* raises the issue of separating bouts of searching versus prey handling. A simple way of directly estimating *a* is to use failure-time analysis (Fox 2001, Haccou and Meelis 1992) on data from the first successful attack for, by definition, prior to this event only searching time has been expended. In this case, the variable of interest is the time until an event (here, the successful attack of a prey) occurs; the corresponding 'rate of event' is called hazard rate. For each level of density, the hazard rate *H(N)*, that we assumed to be constant with time, was directly estimated by fitting a parametric (exponential) survival model to the time of first successful attack. The expected number of prey killed *N_e* during the total searching time *T_s* is $N_e = H(N) \times T_s$, and *a(N)* can be estimated for each level of density as $a(N) = H(N)/N$. We used this

approach to test for a dependency of a upon N and to provide estimates of the instantaneous searching rate (*survreg* function from the Survival package, R).

Handling time, T_h . A direct estimate of T_h was obtained by averaging handling times measured during the course of the experiments. We tested the hypothesis that T_h is a constant parameter by analysing a linear mixed model of handling times that included clone and prey density as fixed effects and code of the mite as a random effect (*lme* function in software R, Pinheiro and Bates 2000).

Encounter rate, e . The number of prey encountered and attacked (successfully or not) during one hour was analysed with a general linear model with prey density and prey density squared as covariates (*glm* function for Poisson distributed data). Because the number of prey encountered is null when the density is zero, the model intercept was set to zero, and the effect of clone was tested as an interaction between prey density and clone.

Attack success, σ . Attack success (Table 1) was analyzed with a general linear mixed model (function *glmmPQL*) with a binomial variable (unsuccessful versus successful attack) as dependent variable, prey density and clone as fixed covariates, and code of the mite as a random effect. Continuous fixed effects (*density*) were tested with t tests and categorical ones (*clone*) with likelihood ratio tests.

A V 4) Results

○ (1) Functional response, and disc equation fitting

We found no effect of clone ($\chi^2_2 = 0.108$, $P = 0.95$), number of prey ($t_{280} = -0.335$, $P = 0.73$), nor box size ($t_{280} = 0.478$, $P = 0.63$) on the proportion of prey eaten. Regarding prey density, neither cubic nor quadratic terms were significant ($P > 0.37$), but proportion of prey eaten decreased linearly with prey density (estimate = -0.016 , $t_{286} = -2.07$, $P = 0.04$) corresponding to a type II functional response. Fitting the disc equation to the data yielded $a = 0.167$ m²/h, and $T_h = 0.162$ h = 9 min 42 sec (Fig. 1). The corresponding type-II functional response (for one hour, $T = 1$) reads (Fig. 2):

$$N_e = \frac{0.167 \times N}{1 + 0.167 \times N \times 0.162}.$$

○ (2) Direct analysis of instantaneous searching rate, a , and handling time, T_h

The analysis of time to first capture revealed that the hazard rate did not differ between clones ($\chi^2_2 = 0.78$, $P = 0.67$), nor depend on box size ($\chi^2_1 = 0.32$, $P = 0.568$), but was affected by number of prey ($\chi^2_1 = 4.59$, $P = 0.032$) and prey density ($\chi^2_1 = 73.0$, $P < 0.01$). The corresponding instantaneous searching rate did not increase with density ($F_{1,4} = 0.103$, $P = 0.76$); its estimated mean value is 0.148 m²/h (Fig. 1).

Direct measurements showed that handling time was highly variable, varying from 10 seconds up to 28 minutes. Handling time did not differ between the clones ($\chi^2_2 = 0.44$, $P = 0.80$), nor did it depend on number of prey present in the box ($\chi^2_1 = 0.69$, $P = 0.40$) or on box size ($\chi^2_1 = 0.17$, $P = 0.67$). Importantly, handling time was not, as has been previously assumed, independent of density. At high density, the predators handled their prey for less time than at lower prey densities (Fig. 3A, T_h (in seconds) = $960 - 116 \times \text{Log}(N)$, $\chi^2_1 = 16.8$, $P < 0.01$). However, this effect is mainly due to higher handling time at the lowest density, while it disappears for larger densities ($\chi^2_1 = 1.97$, $P = 0.16$). The mean handling time estimated across all densities is 0.167 h = 10 min 1 s (Fig. 1). Inserting this estimate of T_h and that of a into the disc equation gives the following functional response (Fig. 2):

$$N_e = \frac{0.148 \times N}{1 + 0.148 \times N \times 0.167}.$$

○ (3) Encounter rate, e , and attack success, σ

The number of encounters (successful and unsuccessful attacks) increased with prey density (estimate = 0.250, 95%CI = [0.227; 0.274], $\chi^2_1 = 905$, $P < 0.01$) and decreased with squared prey density (estimate = -0.0018, 95%CI = [-0.0023; -0.0013], $\chi^2_1 = 45.6$, $P < 0.01$). The increase with density (value of the slope) differed significantly between the clones ($\chi^2_2 = 6.74$, $P = 0.03$, Fig. 3B). When comparing the clones two by two, DK and GB did not differ ($\chi^2_1 = 0.58$, $P = 0.45$), but TO was found to be more vulnerable than DK ($\chi^2_1 = 6.73$, $P = 0.01$) but not significantly more than GB ($\chi^2_1 = 3.25$, $P = 0.07$). When differences between clones are not taken into account, the encounter rate is modelled as: $e(N) = 0.2503 \times N - 0.0018 \times N^2$.

Attack success did not differ between the clones ($\chi^2_2 = 2.41$, $P = 0.29$), and did not depend on number of prey ($t_{220} = 0.68$, $P = 0.49$), box size ($t_{220} = -0.13$, $P = 0.89$) or prey density ($t_{221} = -1.47$, $P = 0.15$). The mean estimate is $\sigma = 0.514$ (95%CI = [0.461; 0.566]). Combining encounter rate (averaged across clones) and attack success yields a third model for the functional response (Fig. 2): $N_e = e \times \sigma = (0.2503 \times N - 0.0018 \times N^2) \times 0.514$.

A V 5) Discussion

We were able to estimate the functional response of our collembola-mite system through three different approaches. The first two approaches involve two parameters, instantaneous searching rate and handling time, that are estimated either (1) by fitting the disc equation to the data or (2) by direct measurement of these parameters. The third approach (3) relates the number of prey eaten to the encounter rate and attack success. We ensured that our protocol enabled us to simultaneously (1) describe the functional response's type; (2) test the basic assumptions of the disk equation; (3) search for potential additive effects of arena size or prey number on prey density on the processes of predation and (4) look for genetic differences in prey susceptibility to predation.

○ Type of functional response

The type of functional response was determined both through fitting the disc equation and direct analysis of instantaneous searching rate. Both approaches failed to reveal any dependency of instantaneous searching rate with density, although the experiment was carried out with several very low prey densities, at a region where the expected differences between a type II and a type III response are supposed to be greatest (Juliano 2001). Our rigorous protocol coupled with the consistency of both approaches confirmed that a type II functional response best described this system. This is indeed the most commonly observed form of functional response in laboratory experiments (Hassell 1978). It also demonstrated that the mites are not able to adjust their searching rate according to prey density. However, at low density, because the dependent variable is a proportion, the relative variability of this variable is higher than at higher density where the number of measured events is lower. This implies that the quality of our estimators is lower at low densities (larger confidence intervals, Fig. 1) and may have reduced our power to detect an underlying type III response. An even larger number of replicates at lower densities would help counterbalance this effect (Juliano 2001). Because in this experiment the functional response has been studied at relatively low prey densities and on a short time scale, the saturation of the functional response is mainly caused by direct handling of the prey rather than by digestion or satiation. Further investigations are needed to study, by running longer experiments, in which way the inclusion of digestion processes in the estimation of the handling time parameter of the functional response will affect this parameter and the type and shape of the functional response.

○ Basic assumptions

The disc equation assumes that: (1) the total time spent foraging and the capture rate constant a are independent of prey density; (2) the time spent handling a given prey item is independent of prey

density; and (3) the frequency of unsuccessful attacks on prey is independent of prey density. Abrams (1990) argued that each of these assumptions is likely to be violated if species behave adaptively, and gave examples of the functional response forms that can result from such violations.

Instantaneous searching rate was not only found to be independent of density but its direct measured value is very much similar to the one derived from fitting the disc equation (Fig. 1). Not surprisingly, estimates obtained from direct measurements (2), as opposed to fitting the disc equation (1), yielded narrower confidence intervals.

The second basic assumption, i.e. that handling time does not change with prey density, was partly violated. At low density, mites took more time to handle their prey (Fig. 3A). But this effect was apparently due to a specific response of handling time at the lowest density. In fact, we found handling time to be very variable. This can reflect strong hidden heterogeneity in the predator's behaviour and/or in variable qualities of the prey. Notably, it reinforces the idea that for sucking predators like mites, handling time is a highly flexible trait (Sih 1980). In our experiments we observed (but did not systematically record) that mites generally remained stationary while processing a prey but in some cases, the predator was able to continue searching in the arena while still sucking a captured collembola. In a few rare cases we even observed that a mite could capture a second prey without letting its first prey slip from its mandibles. Usually, however, handling was suddenly broken off if and when the predator encounters a prey and tried to capture it. These observations indicate that duration of handling can be partly determined by external environmental conditions such as prey density. Importantly, this observed flexibility in handling time may be an adaptive behaviour (Abrams 1990). Because encounter probability depends on prey density, an interruption of handling by a new encounter between a predator with a prey is more likely to happen when prey density is high. This kind of effect could explain the detected decrease of mean handling time with prey density. Despite the fact that measured handling times seem to be dependent on environmental conditions, it is remarkable that the mean observed value is essentially equal to the one indirectly estimated by fitting the disc equation (Fig. 1). In a stinkbug-potato beetle predator-prey experiment, Heimpel (1994) similarly found good agreement between estimated and observed values of handling time but not for attack rate. The good agreement that we found among our independent parameter estimates could be due to the fact that (1) contrary to most experiments we have rigorously kept prey density constant during the experiments and thus provided a rigorous estimation of our parameters when fitting the disk equation to our data (Juliano 2001), and (2) we have worked in conditions (prey densities and duration) where the mites did not get satiated during the trials. Therefore, our direct measurement of handling time is likely to better reflect the estimated handling time from the disk equation that is supposed to include time for attack, eating and digesting the prey (Jeschke, Kopp and Tollrian 2002). We would like to stress again that satiation and learning - which were insignificant in this study - might become important issues in influencing the form of the functional response on longer time scale or at higher densities.

Finally, we found the last assumption, that attack success is independent of density, to be fulfilled. Whatever the density, a mite had approximately a 50% chance of capturing a prey springtail while chasing one. This intermediate value (Vermeij 1982) probably results from the coevolution of the jumping response time of the springtail with the speed of prey capture mechanism in the mite (Hopkin 1997). In our system an attack is nearly instantaneous. Thus, unsuccessful attacks do not significantly alter the time the mite spends searching for prey.

○ Prey number and arena size

Our protocol used identical prey densities in predation arenas of various sizes. We were able to provide a unique assessment of the potential for arena size and prey number to influence predation independently of prey density *per se*. Our protocol enabled us to control for box size and number of prey as well as prey density. When prey density is taken into account, neither box size nor prey number influenced the variables that we have analyzed. We conclude that in our system it is the

density of prey that mainly affects the predator-prey interaction. On the contrary, Wellenreuther et al. (2002) have shown that the Magpie Morwong coral fish is able to adjust its predatory behaviour in response to both prey density and patch size. Such complex adaptive behaviour probably relies on visual cues which are lacking in our protagonists.

○ Predator-prey behaviour

Being blind, *F. candida* is not able to visually detect and avoid a predator. Although it has been shown that collembola can use predator or conspecific odour cues to adapt their movement behaviour and spatial distribution (Nilsson and Bengtsson 2004), our regular cleaning of the surface of the arena before each trial probably helped avoid such behavioural responses in our experiments. Moreover, according to our continuous observations, neither the prey nor the predators seemed to be able to modify their random walk when approaching each other. Regarding prey behaviour, the only defence mechanism that we observed was their ability to jump away with their furca after a mite attack. If the springtail managed to escape (~50% of the times), the predators started to hunt more actively staying for a while in the close neighbourhood of the unsuccessful attack. These observations show that this system behaves closely to that of the experiment initially described by Holling (1959).

○ Genetic variation

We found that the three clones differed in their vulnerability to predation, TO being more susceptible to being attacked than the other clones (Fig. 3B). Such a difference could, in fact, be due to a genetic difference in handling time and/or in level of prey activity. If a predator spent less time, on average, handling TO prey, then more time would be left for searching, hence leading to a larger number of encounters. However, because there is no clone effect of handling time, this interpretation is not supported. A genetic difference in handling could have resulted for instance from a genetic difference in growth rate and/or of adult body size. Indeed there is some genetic variation in these parameters (Tully 2004) but by standardizing the body size of the prey across clones we prevented the body size from directly affecting the form of the predation response. Instead we suggest that the observed difference might be due to different levels of prey activity and their subsequent interaction with a stationary predator: when the mite is motionless, the attack rate will be proportional to the level of activity of the springtails. The higher vulnerability of the clone TO might therefore be due to the higher activity of this clone – a hypothesis that warrants further investigation.

Surprisingly, no clone effect was apparent between levels of the functional response itself. Similarly, differences in prey escape ability did not affect functional response in a polychaete-amphipod predator-prey system (Abrams, Hill and Elmgren 1990). This could result from other compensating genetic effects. Indeed, albeit not significant, the attack success of the clone TO is lower than the one of the other two clones. Subsequently, both of these effects (attack rate and success) tend to compensate and could explain why no genetic differences are detected between the number of prey captured. More detailed work are needed to confirm and eventually clarify these mechanisms. The negative effect of density on the attack rate emphasizes the fact that, at high density, the mites spend more time handling their prey and therefore less time searching.

○ Conclusion

Individual traits that affect the ability to accomplish or avoid predation have major effects on fitness and should be under strong selection. However, the evolution of traits related to predation in both predator and prey has proven to be difficult to understand in theory, and difficult to study empirically. These difficulties have not prevented the growth of theory predicting the potential evolutionary trajectories of predator-prey interactions. However, so far the theory has largely remained untested (Abrams 2000). One way to make a connection between theory and observations from real systems is to demonstrate that key assumptions of the models are satisfied. Essential to evolutionary modelling are assumptions about how adaptive traits relate to model parameters, and how these parameters influence, and how they are influenced by, population densities. Predator-prey coevolutionary models

have assumed that (1) genetic variation in underlying adaptive traits translates into variation in these parameters, and (2) both parameters are independent of prey density. We found that clonal variation in prey vulnerability (attack rate) exists, but this variation is not detected when functional response curves are fitted to the data. Nevertheless, due to sensitivity of model predictions to even tiny changes in their specification (Wood and Thomas 1999), the long term evolutionary consequences of such genetic variation should be taken into account into further coevolutionary models. Also, density affects handling time negatively – an effect which is not reflected in Holling's functional responses. Such results urge coevolutionary theories to incorporate more detailed models of prey and predator behaviour if they are to yield predictions on the adaptive significance of trait variation that could be empirically tested.

A V 6) Acknowledgements

We are grateful to Nathan Pike for his help during the experiment and for helpful comments on an earlier version of the manuscript, to Christina Weidick Kærsgaard (Department of Terrestrial Ecology, DMU, Soil Fauna and Ecotoxicology Research Unit, Silkeborg, Denmark), Anne Bedos and Louis Deharveng (Muséum d'Histoire Naturelle, Paris, France) for providing the clones of *F. candida*, and to Lars R. Lundqvist (Museum of Zoology, Lund University, Sweden) for identifying *P. crassipes*.

A V 7) References

- Abrams, P. A. 1982. Functional responses of optimal foragers. - *American Naturalist* 120: 382-390.
- Abrams, P. A. 1987. The nonlinearity of competitive effects in models of competition for essential resources. - *Theoretical Population Biology* 32: 50-65.
- Abrams, P. A. 1990. The effects of adaptive behavior of the type-2 functional response. - *Ecology* Washington D C 71: 877-885.
- Abrams, P. A. 2000. The evolution of predator-prey interactions: Theory and evidence. - *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 79-105.
- Abrams, P. A., Hill, C. and Elmgren, R. 1990. The functional response of the predatory Polychaete *Harmothoe sarsi* to the Amphipod *Pontoporeia affinis*. - *Oikos* 59: 261-269.
- 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.
- Crawley, M. J. 1983. *Herbivory: the dynamics of animal-plant interactions*. - University of California Press.
- Dercole, F. and Ferrière, R. 2004? - *Evolution*.
- Fan, Y. Q. and Pettitt, F. L. 1994. Parameter estimation of the functional response. - *Environmental Entomology* 23: 785-794.
- Fan, Y. Q. and Pettitt, F. L. 1997. Functional response, variance, and regression analysis: A reply to Williams and Juliano. - *Environmental Entomology* 26: 1-3.
- Fox, G. A. 2001. Failure-time analysis. - In: Scheiner, S. M. and Gurevitch, J. (eds.), *Design and analysis of ecological experiments*. Oxford University Press.
- Haccou, P. and Meelis, E. 1992. *Statistical Analysis of Behavioural Data: An Approach Based on Time-Structured Models*. - Oxford University Press.
- Hassell, M. P. 1978. *The dynamics of arthropod predator-prey systems*. - Princeton University Press.
- Hassell, M. P., Lawton, J. H. and Beddington, J. R. 1977. Sigmoid functional responses by invertebrate predators and parasitoids. - *Journal of Animal Ecology* 46: 249-262.
- Heimpel, G. E. and Hough, G. J. A. 1994. Components of the functional response of *Perillus bioculatus* (Hemiptera: Pentatomidae). - *Environmental Entomology* 23: 855-859.
- Holling, C. S. 1959. The components of predation as revealed by a study of small-mammal predation of the European pine sawfly. - *Canadian Entomologist* 91: 293-320.

- Holling, C. S. 1959. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. - Canadian Entomologist 91: 385-398.
- Holling, C. S. 1966. The functional response of invertebrate predators to prey density. - Memoirs of the Entomological Society of Canada 48: 1-86.
- Hopkin, S. P. 1997. Biology of the springtails (Insecta: Collembola). - Oxford University Press.
- Houck, M. A. and Strauss, R. E. 1985. The Comparative Study of Functional Responses Experimental Design and Statistical Interpretation. - Canadian Entomologist 117: 617-630.
- Ihaka, R. and Gentleman, R. 1996. R: A Language for Data Analysis and Graphics. - Journal of Computational and Graphical Statistics 5: 299-314.
- Jeschke, J. M., Kopp, M. and Tollrian, R. 2002. Predator functional responses: discriminating between handling and digesting prey. - Ecological Monographs 72: 95-112.
- Juliano, S. A. 2001. Nonlinear curve fitting. - In: Scheiner, S. M. and Gurevitch, J. (eds.), Design and Analysis of Ecological Experiments. Oxford University Press, pp. 178-198.
- Juliano, S. A. and Williams, F. M. 1985. On the evolution of handling time. - Evolution 39: 212-215.
- Kabissa, J. C. B., Yarro, J. G., Kayumbo, H. Y. and Juliano, S. A. 1996. Functional responses of two chrysopid predators feeding on *Helicoverpa armigera* (Lep: Noctuidae) and *Aphis gossypii* (Hom: Aphididae). - Entomophaga 41: 141-151.
- Livdahl, T. P. 1979. Evolution of Handling Time - Functional-Response of a Predator to the Density of Sympatric and Allopatric Strains of Prey. - Evolution 33: 765-768.
- Messina, F. J. and Hanks, J. B. 1998. Host plant alters the shape of the functional response of an aphid predator (Coleoptera: Coccinellidae). - Environmental Entomology 27: 1196-1202.
- Nannini, M. A. and Juliano, S. A. 1998. Effects of the facultative predator *Anopheles barberi* on population performance of its prey *Aedes triseriatus* (Diptera Culicidae). - Annals Of The Entomological Society Of America 91: 33-42.
- Nilsson, E. and Bengtsson, G. 2004. Death odour changes movement pattern of a Collembola. - Oikos March 104: 509-517.
- Pinheiro, J. C. and Bates, D. M. 2000. Mixed-Effects Models in S and S-PLUS. - Springer-Verlag.
- Rogers, D. J. 1972. Random search and insect population models. - Journal of Animal Ecology 41: 369-383.
- Russo, R. 1986. Comparison of predatory behavior in five species of *Toxorhynchites* (Diptera: Culicidae). - Annals of the Entomological Society of America 77: 312-318.
- Sih, A. 1980. Optimal foraging - Partial consumption of prey. - American Naturalist 116: 281-290.
- Solomon, M. E. 1949. The natural control of animal populations. - Journal of Animal Ecology 18: 1-35.
- Song, Y. H. and Heong, K. L. 1997. Changes in searching responses with temperature of *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Hemiptera: Miridae) on the eggs of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal.) (Homoptera: Delphacidae). - Researches On Population Ecology 39: 201-206.
- Stephens, D. W. and Krebs, J. R. 1986. Foraging theory. - Princeton University Press.
- Thompson, D. J. 1975. Towards a predator-prey model incorporating age structure: the effects of predator and prey size on the predation of *Daphnia magna* by *Ischnure elegans*. - Journal of Animal Ecology 44: 907-916.
- Trexler, J. C., McCulloch, C. E. and Travis, J. 1988. How can the functional response best be determined. - Oecologia Berlin 76: 206-214.
- Tully, T. 2004. Facteurs maternels, génétiques et environnementaux de l'expression des traits d'histoire de vie chez le collembole *Folsomia candida*, Willem (Isotomidae). Ecologie. - Pierre et Marie Curie, p. 237.

- Venable, W. N. and Ripley, B. D. 1999. Modern applied statistics with S-PLUS. - Springer-Verlag.
- Vermeij, G. J. 1982. Unsuccessful predation and evolution. - *American Naturalist* 120: 701-720.
- Weisser, W. W., Braendle, C. and Minoretti, N. 1999. Predator-induced morphological shift in the pea aphid. - *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 266: 1175-1181.
- Wellenreuther, M. and Connell, S. D. 2002. Response of predators to prey abundance: separating the effects of prey density and patch size. - *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 273: 61-71.
- Williams, F. M. and Juliano, S. A. 1996. Functional responses revisited. - *Environmental Entomology* 25: 549-550.
- Wood, S. N. and Thomas, M. B. 1999. Super-sensitivity to structure in biological models. - *Proceedings Of The Royal Society Of London Series B-Biological Sciences* 266: 565-570.
- Yoshida, T., Urabe, J. and Elser, J. J. 2003. Assessment of 'top-down' and 'bottom-up' forces as determinants of rotifer distribution among lakes in Ontario, Canada. - *Ecological Research* 18: 639-650.

○ LEGENDS

Tables

Table 1 Model parameters and units

Table 2 Four sizes of circular boxes were used as arenas in which one, two or four springtails were introduced. Prey density was expressed as number of prey per surface leading to six levels of density (1, 2, 4, 8, 16, 32, density of 1 corresponded to 18 collembola / m², density of 32 corresponded to 570 collembola/m²). For each level of number of prey and size of the arena 24 trials were conducted. The maximum number of prey a predator captured during one hour in our experiment is presented in brackets for each treatment level.

Figures

Fig. 3 Estimated values (with 95% confidence intervals) of the two parameters from the type II functional response, instantaneous searching rate a and handling time T_h , through disc equation fitting (method 1, see text for details) and direct measurements (method 2).

Fig. 4 Functional responses: data and models fitted through methods 1-3. Mean number of prey captured (with 95% confidence intervals) are represented for each level of prey density. Solid line: disc equation fitting (method 1). Dashed line: direct measurement of instantaneous searching rate and handling time inserted into the disc equation (method 2). Dotted line: product of the estimated attack rate (quadratic in density, using mean estimate across clones for the slope parameter) with the estimated attack success (method 3).

Fig. 5 A, Handling time as a function of density (log scale). Raw data and mean handling time (with 95% confidence intervals) are plotted for each level of prey density. Solid line: Predicted response from a linear model fitted to handling time measurements. Dashed line: Smoothing spline fitted to the raw data. B, Mean number of prey encounters for each clone (DK, GB & TO) and level of density (with 95% confidence intervals) fitted by a quadratic equation (model structure: $N_e \sim Clone \times N + N^2$). The genetic variation on the slope parameter is illustrated by the difference in the three curves (one for each clone) predicted by the model.

○ TABLES

Table 1

Parameter	Description & units
N_e	Number of prey eaten during the time of the experiment (one hour)
N	Prey density (expressed in number of prey per 0.1123 m ²)
T_t	Total time of the experiment (hour)
T_h	Handling time per prey item (hour)
T_s	Time spent searching (hour)
a	Instantaneous searching rate or attack constant (probability of capturing a prey per unit of density and time spent searching expressed in surface cleared of prey per unit of time, m ² /h)
e	Number of encounter rate (number of prey encountered detected and attacked, successfully or not, per unit of time i.e. per hour in the experiment)
σ	Attack success (probability of capturing a prey being attacked).

Table 2

	Number of collembola introduced		
Surface cm ² (relative size)	1	2	4
70.2 (1)	8 (5)	16 (7)	32 (8)
140.4 (2)	4 (4)	8 (6)	16 (8)
280.8 (4)	2 (4)	4 (3)	8 (7)
561.5 (8)	1 (2)	2 (1)	4 (4)
	Relative density (max nb of prey eaten)		

○ FIGURES

Fig. 1

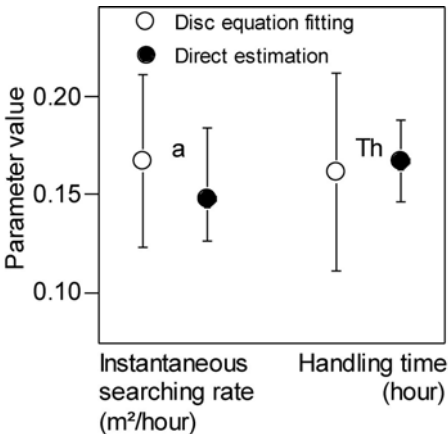


Fig. 2

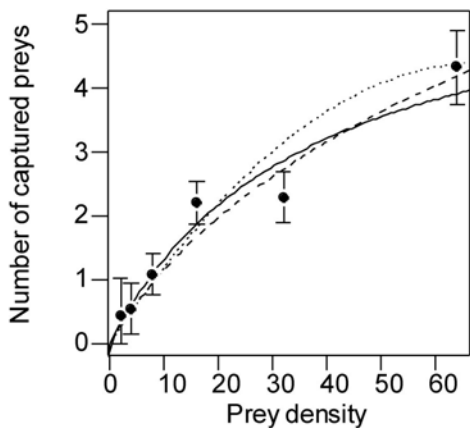
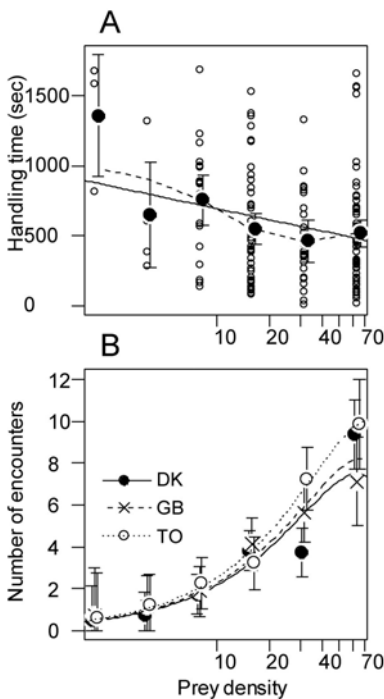


Fig. 3



A VI Two major evolutionary lineages revealed by molecular phylogeny in the parthenogenetic collembolan, *Folsomia candida* (article invité par *Pedobiologia*)

T. Tully^{1*}, C. A. D'Haese², M. Richard¹ & R. Ferrière^{1,3}

¹UMR 7625, Laboratoire d'Écologie

École Normale Supérieure,

46 rue d'Ulm

75230 Paris Cedex 05

France

²UMR 5202 CNRS, Origine, Structure et Évolution de la Biodiversité

Département Systématique et Évolution,

Muséum National d'Histoire Naturelle,

45 rue Buffon, F-75005 Paris, France

³Department of Ecology and Evolutionary Biology,

University of Arizona, Tucson AZ 85721, USA

* Corresponding author: Thomas Tully, ph.: +33 1 44 32 34 84,
fax: +33 1 44 32 38 85,

Email: tully@biologie.ens.fr

Total number of words: 5301 (from introduction to acknowledgments : 3215 words)

Total number of characters: 29466

Summary

In order to measure the genetic variability and determine the evolutionary relationships among strains of the parthenogenetic "standard" springtail *Folsomia candida*, we used Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD-PCR) markers and determined the nucleotide sequence of the 18S and 28S rRNA genes. Both types of molecular characters were found to be polymorphic. We obtained phylogenetic trees using Direct Optimization in the dynamic homology paradigm. The trees were polarized with *Isotoma viridis* as outgroup. All the trees based on one or the other type of molecular characters or based on all characters pooled together, support the hypothesis of an early divergence of two distinct lineages among the eleven strains of *F. candida* under study. Our results also suggest that these lineages differ in their rate of evolution and mode of diversification. The geographical origin of the studied strains was examined but we found no clear relation between the phylogenetic relationships and probable geographical origins. The early divergence of several lineages in this species should be taken into account when comparing studies on genetically different strains of this model organism. RAPD-PCR typing is an easy and efficient tool for doing such a task.

Keyword : *Folsomia candida*; RAPD-PCR markers; 18S & 28S rRNA genes; molecular phylogeny; DNA-based identification, diversification.

Introduction

Folsomia candida Willem 1902 is a cosmopolitan and widely distributed species. It has been found in many types of microecosystems (agricultural fields, plant-pots, greenhouses, caves, compost heaps, decaying straw...) yet its occurrence seems hardly predictable and its density is usually low in nature

(Potapow, 2001). This springtail is parthenogenetic (but see Frati et al., 2004; Marshall & Kevan, 1962) and has a high fecundity (Snider, 1973). Moreover, its polyphagy (Van Amelsvoort & Usher, 1989) and resistance to starvation (Tully, 2004) make it easy to raise in the laboratory (Usher & Stoneman, 1977). *F. candida* is indeed one of the most commonly used standard soil arthropods (Fountain & Hopkin, 2005; Hopkin, 1997). It is used as a model organism in different areas of biology such as population biology (e.g. Johnson & Wellington, 1980; Pike et al., 2004; e.g. Usher & Hider, 1975), evolutionary ecology (e.g. Stam et al., 1996; Tully, 2004), soil biology (e.g. Cragg & Bardgett, 2001) and ecotoxicology (e.g. Addison, 1996; e.g. Cortet et al., 1999; Idinger, 2002). In ecotoxicology *F. candida* is used for standard toxicity tests such as the population development test ISO/FDIS 11267 (ISO, 1999; Riepert & Kula, 1996). These tests are supposed to be comparable between experiments conducted by different laboratories. But different laboratories usually use different strains of *F. candida* whose origins are often neither well known nor controlled. Because of its clonal reproduction, genetic variation within a strain is negligible (Simonsen & Christensen, 2001). But genetic variation between different strains has been found on molecular markers (RAPD-PCR markers & strain-specific esterase: Chenon et al., 2000; Grimnes, 1986; Simonsen et al., 2001) and also on life-history traits such as fecundity, survival of growth (Grimnes & Snider, 1981; Stam et al., 1996; Tully, 2004). Therefore the genetic identities of the strains used in the ecotoxicology tests are expected to affect the outcome of the tests. Large variability has in fact been observed between different reproduction tests in several studies (Crouau & Cazes, 2003; Crouau et al., 2002; Riepert, 1995). Nevertheless, some authors consider genetic variability in life-history traits to be a negligible cause of variation in soil ecotoxicology tests (Crommentuijn et al., 1995). But, other studies have compared the responses of different strains to pollutants: both Crommentuijn (1995) and Chenon (2000) report interclonal differences in life-history traits such as reproduction and survival but also on how sensitive these life-history traits are to toxicants. Similarly, Indinger (2002) found genetic differences in the sensitivity to insecticides.

Considering the probable importance of these genetic differences in life-history traits, a fast and efficient method to identify the different clones and assess their relatedness is needed.

This paper aims to provide such a method based on RAPD-PCR markers and to go one step further by disentangling the phylogenetic relationships that link the different strains of *F. candida*. In addition to helping laboratories working on different strains to assess to what extent their measurements can be compared to each other, this will provide a phylogenetic perspective of the evolution of this species - a first step needed for understanding the evolutionary diversification of this springtail -.

Material & method

Origin and culture of the clonal strains

Eleven strains of *F. candida* have been kept in our lab since 1999. Some of them have been collected recently from wild or anthropogenic habitats (Cave: TO; Plant pot: AP, BV, PB). We obtained the other strains from different laboratories where they have been used as model organisms for several years (DK, GM, US) or even decades (BR, GB). For each strain, we report in Table 1 the available information regarding their probable habitat (forest litter, DK; crop field, US; compost, GB) and geographical origin, date of collection and the published work where they are mentioned. Two of the strains come from North America (US & WI); the others are from four European countries.

For each strain, clonal populations issued from a single female are maintained in our laboratory. Stock populations are kept in polyethylene vials (diameter 52 mm, height 65 mm) filled with a 30 mm layer of plaster of Paris mixed with china ink to increase the visual detectability of individuals. Food is provided once a week in the form of a small dried pellet (8 µL) of a mixture of agar and dried yeast in a standardized concentration and volume (5000 µL water + 80 mg agar + 800 mg dried yeast). Stock cultures are kept in incubators at $21 \pm 0.5^\circ\text{C}$, with a 12h light:12h dark cycle and constant humidity (~100%).

DNA extraction

DNA was extracted from adult springtails collected from the stock cultures and stored in 70% alcohol. Individuals were placed individually in 0.2 mL microtubes in which 50 µL of SB buffer (TE [tris: 10 mM, EDTA: 1 mM], NaCl [25 mM], Protein K [200 µg/mL]) were added after the alcohol has dried out. The collembola specimens were carefully crushed in the tubes with small pestles and then incubated at 55°C during ~one hour. The digestion was stopped by heating the tubes at 72°C during 10 minutes to inactivate the proteinase K.

Sequencing

The 18S rRNA 643 bp fragment was PCR-amplified using primer pair a2.0-9R. The 28S rRNA 528 to 534 bp fragment was amplified and sequenced using primer pair 28Sa-28Sbout (Edgecombe et al., 2002; Giribet et al., 1996; Whiting et al., 1997). Amplification was carried out in a 50 µL volume reaction, with 1.25 units of AmpliTaq® DNA Polymerase (Perkin Elmer, Foster City, CA, USA), 200 µM of dNTPs, and 1 µM of each primer. The PCR program consisted of an initial denaturing step at 94°C for 60 s, 35 amplification cycles (94°C for 15 s, 49°C for 15 s, 72°C for 15 s), and a final step at 72°C for 6 min in a GeneAmp® PCR System 9700 (Perkin Elmer). PCR amplified samples were purified with the GENE CLEAN® III kit (BIO 101 Inc., Vista, CA, USA) or with the AGTC® Gel Filtration Cartridges (Edge BioSystems, Gaithersburg, MD, USA), and directly sequenced using an automated ABI Prism® 3700 DNA analyzer. Cycle-sequencing with AmpliTaq® DNA polymerase, FS (Perkin-Elmer) using dye-labelled terminators (ABI PRISM™ BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit, Foster City, CA, USA) was performed in a GeneAmp® PCR System 9700 (Perkin Elmer). The sequencing reaction was carried out in a 10 µL volume reaction: 4 µL of Terminator Ready Reaction Mix, 10 30 ng/ml of PCR product, 5 pmoles of primer and dH₂O to 10 µL. The cycle-sequencing program consisted of an initial step at 94°C for 3 min, 25 sequencing cycles (94°C for 10 s, 50°C for 5 s, 60°C for 4 min), and a rapid thermal ramp to 4°C and hold. The BigDye-labelled PCR products were isopropanol-precipitated following manufacturer protocol, or cleaned with AGTC® Gel Filtration Cartridges (Edge BioSystems). Chromatograms obtained from the automated sequencer were read and contigs made using the sequence editing software Sequencher™ 3.0 (Gene Codes Corporation). External primers were excluded from the analyses. All the new sequences have been deposited in GenBank. Regarding 18S rRNA, only clones DK, HA, GB, GM, PB, US & WI were sequenced; for 28S rRNA, the same clones except HA were analysed.

RAPD-PCR

Previous work by Chenon et al. (2000) has shown that RAPD can be successfully used in this species as a molecular marker because it provides bands that vary from one clone to another but are stable within a clone. We have used the protocol described by Chenon et al. (2000) with several modifications.

PCR were carried out in 20 µL [600 nM of each primer, 600 µM of dNTPs, 2 µL of 10X incubation buffer (50 mM KCl, 10 mM TrisHCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.1% TritonX- 100, pH 9.0), 0.5 U of Taq DNA polymerase (Qbiogene) and 2 µL of digestion's product] and performed in a Gene Amp PCR System 9700 thermocycler (Applied Biosystems) with the following PCR program: 40 sequencing cycles (95°C for 10 s, 36°C for 30 s, 72°C for 1 min) followed by 72°C for 2 min then 4°C.

After amplification, 2 µL of loading dye are added to each PCR product. Then 10 µL of each PCR product were separated by electrophoresis through a 1.5% (mass) agarose gel in a 1X TBE buffer containing 1 µg/mL ethidium bromide. As a size standard, some wells are loaded with 5 µL of a 100 pb DNA ladder (Fermentas, prepared according to the manufacturer's recommendations). The gels are electrophoresed for 3 h at 100-110 V/ 70 mA and then photographed with a digital camera. Bands are then marked (1) for presence and (0) for absence.

Phylogenetic analysis

Analyses of the 18S and 28S rRNA sequences were conducted using the Direct Optimization method (Wheeler, 1996) as implemented in the computer program POY (Wheeler et al., 2002) available at <http://research.amnh.org/scicomp/projects/poy.php>. Direct Optimization is an implementation of the dynamic homology paradigm avoiding intermediate alignment steps by directly assessing the number of evolutionary events, i.e. DNA sequence transformations. This method generates more efficient explanations of sequence variation than do multiple alignments, and produces more congruent results: shorter or more likely trees (Giribet et al., 2002; Wheeler & Hayashi, 1998).

The RAPD characters (presence/absence of the bands) were analyzed using the parsimony programs NONA version 2.0 (Goloboff, 1998) and Winclada version 1.00.08 (Nixon, 2002). The search strategy used Tree Bisection and Reconnection (TBR) branch swapping on a series of 1000 random addition replicates retaining up to 10 cladograms per replicate (commands: h/10; mult 1000).

We used *Isotoma viridis* Bourlet 1839 (Collembola, Isotomidae) as an outgroup. *I. viridis* belongs to the same family as *F. candida*. Individuals were collected in leaf litter in the Bois de Vincennes near Paris, France.

Each data set was analyzed independently and simultaneously including the RAPD data set ("total evidence", Kluge, 1989). The stability of the results was studied through a sensitivity analysis (Wheeler, 1995) by exploring a parameter space of two variables (gap/transversion ratio and transversion/transition ratio), totalling four parameter sets analyzed per partition, and for each of the combined analyses (molecular and total evidence). Specifically, we compared the topologies of the phylogenetic trees where relative weights of gap, transition and transversion were respectively fixed to 1:1:1 (equal weighting), 2:1:1, 2:2:1, and 4:2:1. For the combined analyses, gaps and RAPD characters were equally weighted.

POY_OPTIONS='-norandomizeoutgroup -seed -1 -buildspr -buildmaxtrees 1 -replicates 50 -ratchettbr 5 -ratchetpercent 10 -ratchetseverity 3 -ratchettrees 2 -fitchtrees -slop 5 -checkslop 20 -indices'

Results

Genetic diversity

From the 18S rRNA sequences, five characters carried information (0.8%). The 28S rRNA sequences produced seven informative characters (1.3%). The complete sequences for the different clones are registered in the EMBL-GenBank database.

Regarding the RAPD analysis, using five primers, we were able to score 47 different bands (Table 2) ranging in size from 0.1 to 1 kb (Fig. 1). Although many bands were conserved in several clones, none was present in all clones and no two clones were exactly similar. Therefore the RAPD results provided many characters, all of them providing information.

Phylogeny

The phylogenetical analysis of both the 18S and 28S rRNA sequences produced a single tree for each gene that revealed a basal trifurcation separating *I. viridis* and two groups of clones of *F. candida*: GB and HA (clade "A") versus US, PB, WI, DK and GM (Clade "B", Fig. 2a & 2b). Changing the relative weights of gap, transition and transversion did not change the cladogram topology for either the 18S or 28S rRNA molecular markers. The lack of sufficient genetic variability for the two rRNA sequences is responsible for the "rake-like" tree structure observed within each of the two main lineages.

Using the more variable RAPD-PCR markers, the phylogenetic analysis found 6 equally probable trees. They all show the same global topology that separates the eleven clones into two very distinct lineages. The first lineage ("A") encompasses clones AP, GB, HA, BR and BV while the second ("B") gathers together the clones WI, PB, TO, DK, GM and US (Fig. 2c, consensus tree of the 6 trees). The two lineages exactly match up the two groups of clones revealed by the rRNA sequences analysis. With the RAPD markers, genetic differences between clones within each cluster is sufficient to bring out the basal position of clones AP and GB and the close relatedness of HA, BR and BV in the first

lineage. In the second lineage, WI was found to be basal while DK, GM and US form a rack closely related to PB and TO (Fig. 2c).

Finally, an analysis based on the three different markers together produces 46 equally probable trees. The topologies of these trees are the same as the previously obtained topologies and confirm the hypothesis of an early evolution of two distinct major lineages. The consensus tree of these 46 trees (Fig. 2d) corroborates the basal position of AP and GB in the first lineage, whereas the relative position of the six clones belonging to the second lineage remains unresolved. This later "rake-like" tree structure is not due to a lack of genetic difference between clones but to conflicting signals between rRNA and RAPD characters. Differences in branch lengths indicate that clade "B" has accumulated more evolutionary changes than clade "A" (Fig. 2d).

Biogeography

The probable geographical origin of the eleven clones does not appear to be directly related to the evolution of the two major lineages (Table 1). Clade "A" is composed of clones coming from France (AP, BR and BV from the Paris area), from Great Britain (GB) and The Netherlands (HA). Clones from clade "B" which, according to our phylogenetical analysis, are related more closely, come from both North America (US & WI) and different parts of Europe - southern France (GM, TO), centre of France (PB), and northern Europe (DK). No clear relationship is found to exist between ecological natural origins, or time spent in the laboratory, and the evolutionary divergence of the two clades (Table 1).

Discussion

Genetic diversity

We found genetic differences between all clones of *F. candida* that have been analysed in this study. Genetic diversity was observed both on the RAPD-PCR markers and on 18S and 28S rRNA gene sequences, the level of variation of the two rRNA sequences being much lower than the genetic variation revealed by the RAPD-PCR products. The fairly weak level of genetic variation found on the rRNA sequences is consistent with the fact that these sequences usually do not vary much within species on evolutionary time scales (Kawashita et al., 2001; Oxelman, 1996). These genes are known to evolve slowly and variation in their sequences is usually observed only on a long phylogenetical time scale (Giribet et al., 1996).

By randomly gathering strains of *F. candida* in different laboratories and in various natural or semi-natural habitats, we never found two genetically identical strains. This reinforces previous results indicating that many laboratories do indeed work on genetically different strains and that, despite its parthenogenetic reproduction, genetic diversity is high and common in this species (Chenon et al., 2000; Crommentuijn et al., 1995; Simonsen et al., 2001; Stam et al., 1996).

Phylogenetic relationships

Despite the low level of genetic variation from the rRNA sequences, there were enough informative characters to build up cladograms, the topologies of which being the same for the two sequences and being unaffected by modifications caused by changes in weights attributed to gap, transition and transversion. The analysis of these genetic markers identified the divergence of two groups of clones and the same two major lineages were revealed by the phylogenetic analysis inferred from RAPD-PCR data. Five clones from different parts of Europe make up the first group ("A") whereas the second lineage ("B") encompasses strains from North America as well as southern and northern Europe. The congruence of these different approaches strengthens the main result of an early divergence of two lineages during the evolutionary history of this species (Fig. 2).

Combining all the characters together shows that both lineages differ by the length of the branch from the basal trifurcation (Fig. 2d). The shorter branch length of clade "A" indicate that it diversified at a slower and more steady pace than clade "B". The different clones from clade "B" are more closely

related than those of clade "A". Supposing that the rate of evolution is constant through time within each lineage, these differences indicate that clade "B" has a much shorter coalescence time than clade "A". Therefore, our results suggest that the lineages differ both by their rate of evolution and mode of diversification. These interpretations remain however to be verified (1) by estimating the divergence times and (2) by searching for new lineages or clones.

Divergence time estimation

One question that this study raises, but does not answer, is when did the successive stages of radiation take place. The ribosomal gene sequences are known to have a low evolutionary rate (Giribet et al., 2004). The fact that we found some weak but consistent polymorphism in these sequences suggests that the deep divergence of the clades may be quite old. Unfortunately, neither the variation of the 18S nor that of the 28S rRNA sequences were sufficient ($\leq 1.3\%$) to reliably use a molecular clock. Further molecular work, using sequences such as mitochondrial DNA that evolve more rapidly than nuclear DNA (Brown et al., 1982) are needed to put the cladogram back on an evolutionary time scale.

Evolutionary diversification

In order to better understand the evolutionary diversification of this species, one has to know whether all existing strains of *F. candida* belong to one or the other of the two main lineages revealed in this study or whether there is other lineages in nature? Other main lineages such as these may have gone undetected due to a sampling bias of our eleven clones.

Finally, the question of the factors that have led to the evolution of such distinct lineages remains to be answered. The absence of any clear connexion between geographical origin and evolutionary relationship could be due to several causes. First, some clones have spent long periods of time in one or several laboratories. The exact geographical origin of those clones remains uncertain. Many clones have been collected in non-natural environments such as plant pots. We have no information regarding the natural geographical origin of these strains, which may have been transported over long distances with the compost they were found in. The cosmopolitan habits of this species and its ability to invade disturbed habitats (Potapow, 2001), coupled with its parthenogenetic mode of reproduction, result in a great dispersal ability associated with a strong founder effects. All of these factors have contributed to mixing up geographical natural origins and evolutionary relationships. Again, this issue could be resolved by searching for new strains from natural habitats. Studying the ecological niches where these strains occur would shed light on the role that local adaptation versus drift may have played in shaping genetic diversity in this species. Measuring the genetic diversity of life-history traits in our genetic pool could help understating the processes of evolution and diversification in this species. Further investigation has been undertaken to address this question which will be examined in a forthcoming paper.

Acknowledgments

This work was made possible by a PhD grant from the French Ministère de l'Éducation et de la Recherche and received financial support from the EU RTN ModLife and program Biological Invasions funded by the French Ministry for Research and Education.

Bibliography

- Addison, J.A., 1996. Safety testing of tebufenozide, a new molt-inducing insecticide, for effects on nontarget forest soil invertebrates. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 33, 55-61.
- Brown, W.M., Prager, E.M., Wang, A., Wilson, A.C., 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 18, 225-239.
- Chenon, P., Rousset, A., Crouau, Y., 2000. Genetic polymorphism in nine clones of a parthenogenetic collembolan used in ecotoxicological testing. *Applied Soil Ecology*, 14, 103-110.
- Cortet, J., Gomot, D.V.A., Poinot, B.N., Gomot, L., Texier, C., Cluzeau, D., 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35, 115-134.

- Cragg, R.G., Bardgett, R.D., 2001. How changes in soil faunal diversity and composition within a trophic group influence decomposition processes. *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 2073-2081.
- Crommentuijn, T., 1994. Sensitivity of soil arthropods to toxicants, Vrije University, Amsterdam.
- Crommentuijn, T., Stab, J.A., Doornekamp, A., Estoppey, O., Van, G.C.A.M., 1995. Comparative ecotoxicity of cadmium, chlorpyrifos and triphenyltin hydroxide for four clones of the parthenogenetic collembolan *Folsomia candida* in an artificial soil. *Functional Ecology*, 9, 734-742.
- Crouau, Y., Cazes, L., 2003. What causes variability in the *Folsomia candida* reproduction test? *Applied Soil Ecology*, 22, 175-180.
- Crouau, Y., Gisclard, C., Perotti, P., 2002. The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) in bioassays of waste. *Applied Soil Ecology*, 19, 65-70.
- D'Haese, C.A., 2002. Were the first springtails semi-aquatic? A phylogenetic approach by means of 28S rDNA and optimization alignment. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, 269, 1143-1151.
- D'Haese, C.A., 2003. Morphological appraisal of Collembola phylogeny with special emphasis on Poduromorpha and a test of the aquatic origin hypothesis. 32, 563-586.
- Edgecombe, G.D., Giribet, G., Wheeler, W.C., 2002. Phylogeny of Henicopidae (Chilopoda: Lithobiomorpha): a combined analysis of morphology and five molecular loci. *Systematic Entomology*, 27, 31-64.
- Fountain, M.T., Hopkin, S.P., 2005. *Folsomia candida* (Collembola): a "standard" soil arthropod. *Annual Review of Entomology*, 50, 201-222.
- Fрати, F., Negri, I., Fanciulli, P.P., Pellicchia, M., Paola, V.D., Scali, V., Dallai, R., 2004. High levels of genetic differentiation between *Wolbachia*-infected and non-infected populations of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae). *Pedobiologia*, 48, 461-468.
- Giribet, G., Carranza, S., Baguna, J., Riutort, M., Ribera, C., 1996. First molecular evidence for the existence of a Tardigrada plus arthropoda clade. *Molecular Biology and Evolution*, 13, 76-84.
- Giribet, G., Edgecombe, G.D., Carpenter, J.M., D'Haese, C.A., Wheeler, W., 2004. Is Ellipura monophyletic? A combined analysis of basal Hexapod relationships with emphasis on the origin of Insects. *Organisms Diversity & Evolution*, 4, 319-340.
- Giribet, G., Wheeler, W.C., Muona, J., 2002. DNA multiple sequence alignments. In *Molecular Systematics and Evolution: Theory and Practice* (eds R. DeSalle, G. Giribet & W.C. Wheeler), pp. 107-114. Birkhäuser Verlag.
- Goloboff, P.A., 1998. Nona. Program and documentation available at www.cladistics.com.
- Grimnes, K.A., 1986. Esterases in *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae), characterization of enzymes among parthenogenic strains. *Comparative Biochemistry and Physiology C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, 83, 359-364.
- Grimnes, K.A., Snider, R.M., 1981. An analysis of egg-production in four strains of *Folsomia candida* (Collembola). *Pedobiologia*, 22, 224-231.
- Hopkin, S.P., 1997. *Biology of the springtails* (Insecta: Collembola) Oxford University Press, Oxford.
- Idinger, J., 2002. Laboratory studies to detect effects of selected plant protection products on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae). *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, 109, 512-529.
- ISO, 1999. Soil quality-inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. Rep. No. ISO 11267 International Standard Organization, Genève.
- Johnson, D.L., Wellington, W.G., 1980. Predation of *Apocheilichthys minimus* (Pseudoscorpionida: Chthoniidae) on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) II. Effects of predation on prey populations. *Researches on Population Ecology*, 22, 353-365.
- Kawashita, S.Y., Sanson, G.F.O., Fernandes, O., Zingales, B., Briones, M.R.S., 2001. Maximum-likelihood divergence date estimates based on rRNA gene sequences suggest two scenarios of *Trypanosoma cruzi* intraspecific evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 18, 2250-2259.
- Kluge, A.G., 1989. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among Epicrates (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*, 38, 7-25.
- Marshall, V.G., Kevan, D.K.M., 1962. Preliminary observations on the biology of *Folsomia candida* Willem, 1902 (Collembola: Isotomidae). *The Canadian Entomologist*, 94, 575-586.
- Nixon, K.C., 2002. WinClada. Published by the author, Ithaca, NY.

- Oxelman, B., 1996. RAPD patterns, nrDNA ITS sequences and morphological patterns in *Silene* section Sedoideae (Caryophyllaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 201, 93-116.
- Pike, N., Tully, T., Haccou, P., Ferrière, R., 2004. The effect of autocorrelation in environmental variability on the persistence of populations: an experimental test. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, 271, 2143-2148.
- Potapow, M., 2001. Isotomidae. Staatliches Museum für Naturkunde Görlitz, Görlitz.
- Riepert, F., 1995. First report of the second international ring test on a method for determining the effects of chemicals or soil contaminants on the reproduction of collembola. *Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Institut für Chemikalienprüfung*.
- Riepert, F., Kula, C., 1996. Development of laboratory methods for testing effects of chemicals and pesticides on Collembola and earthworms. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, 82.
- Simonsen, V., Christensen, P.G., 2001. Clonal and genetic variation in three collembolan species revealed by isozymes and randomly amplified polymorphic DNA. *Pedobiologia*, 45, 161-173.
- Smit, C.E., VanGestel, C.A.M., 1996. Comparison of the toxicity of zinc for the springtail *Folsomia candida* in artificially contaminated and polluted field soils. *Applied Soil Ecology*, 3, 127-136.
- Snider, R.J., 1973. Laboratory observations on the biology of *Folsomia candida* Willem (Collembola: Isotomidae). *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, 3, 103-24.
- Stam, E.M., Van De Leemkule, M.A., Ernsting, G., 1996. Trade-offs in the life history and energy budget of the parthenogenetic collembolan *Folsomia candida* (Willem). *Oecologia Berlin*, 107, 283-292.
- Tully, T., 2004. Facteurs génétiques, maternels et environnementaux de l'expression des traits d'histoire de vie chez le collembole *Folsomia candida*, Willem (Collembola, Isotomidae), Université Pierre et Marie Curie, Paris, Paris.
- Usher, M.B., Hider, M., 1975. Studies on populations of *Folsomia candida* (Insecta Collembola) - Causes of aggregations. *Pedobiologia*, 15, 276-283.
- Usher, M.B., Stoneman, C.F., 1977. *Folsomia candida* - an ideal organism for population studies in the laboratory. *Journal of Biological Education*, 11, 83-90.
- Van Amelsvoort, P.A.M., Usher, M.B., 1989. Egg-production related to food quality in *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) - Effects on life-history strategies. *Pedobiologia*, 33, 61-66.
- Van Dooren, T., Tully, T., Ferrière, R., 2005. The analysis of reaction norms for age and size at maturity using maturation rate models. *Evolution*, in press.
- Vannier, G., Kilbertus, G., 1984. Colonization pattern of two saprophagous insect species in a decaying tree log. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, 21, 329-346.
- Vannier, G., Verdier, B., 1981. Critères écophysiologiques (transpiration, respiration) permettant de séparer une espèce souterraine d'une espèce de surface chez les Insectes Collembolés. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, 18, 531-549.
- Wheeler, W.C., 1995. Sequence alignment, parameter sensitivity, and the phylogenetic analysis of molecular data. *Systematic Biology*, 44, 321-331.
- Wheeler, W.C., 1996. Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics? *Cladistics*, 12, 1-9.
- Wheeler, W.C., Gladstein, D.S., DeLaer, J., 2002. POY. Software for direct optimization of DNA and other data. American Museum of Natural History, New York.
- Wheeler, W.C., Hayashi, C.Y., 1998. The phylogeny of the extant chelicerate orders. 14, 173-192.
- Whiting, M.F., Carpenter, J.C., Wheeler, Q.D., Wheeler, W.C., 1997. The strepsiptera problem: Phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology. 46, 1-68.

Captions

Table 2 Geographical origins of the eleven strains of *Folsomia candida* used in this study. All the strains are also studied by Tully (2004).

Table 3 Primers used for the RAPD analysis (Chenon et al., 2000) and number of scored bands (Fig. 1).

Figure 114 RAPD-PCR fragment profiles of eleven clones of the species *Folsomia candida* labelled AP, BR, BV, DK, GB, GM, HA, PB, TO, US & WI and of one individual of *Isotoma viridis* (labelled IV) generated by the five different primers (A7, A9, A10, A11, A18). Molecular size standard is in track M.

Figure 115 Consensus cladograms of eleven clones of *Folsomia candida* (AP,..., WI) using the closely related species *Isotoma viridis* as an outgroup. Branch lengths are proportional to number of evolutionary events. Unresolved nodes are collapsed, giving rise to "rake like" tree structures. The first three cladograms have been obtained by analysing the 18S rRNA (a) or 28S rRNA (b) sequences (with equal weighting) or the RAPD-PCR fragments (c) generated by five primers (Fig. 1). The fourth cladogram (d) presents the consensus tree obtained when the three different characters are pooled and analysed together with equal weighting. Because the 18S (resp. 28S) rRNA of only seven (resp. six) clones have been sequenced, the first two cladograms concern a subset of our genetic pool. The two major lineages are labelled A & B.

Table 1

Strain label	Probable "natural" origin	Collected	Provided by	Studied in
AP	Plant pot, Paris, France.	2000	A. Provensal, University Pierre & Marie Curie, Paris, France	
BR	Log, parc du Petit Château, Brunoy, France.	1975	G. Vannier, National Museum of Natural History, Brunoy, France	"BR" in Van Dooren et al. (2005), in Stam et al. (1996) and in Crommentuijn et al. (1995); "n°9" in Chenon et al. (2000); Vannier & al. (1984; 1981).
BV	Plant pot, Paris, France.	2001	B. Viginier, University Pierre & Marie Curie, Paris, France	
DK	Forest near Berlin, Germany.	1975 ?	H. Sjørnsen & C. Weidick Kærsgaard, National Environmental Research Institute, Silkeborg, Denmark	Simonsen et al. (2001)
GB	Compost heap, around York or Norwich, United Kingdom.	1977 ?	H. Sjørnsen & C. Weidick Kærsgaard, National Environmental Research Institute, Silkeborg, Denmark.	Simonsen et al. (2001); "n°6" in Chenon et al. (2000); "GB" in Stam et al. (1996); "No" in Crommentuijn et al. (1995); Usher et al. (1977)
GM	Leaf litter near a cave in Moulis, France.	<2000	C.D'Haese & J. Najt, National Museum of Natural History, Paris France	D'Haese (2002; 2003)
HA	Arable land, experimental farm, "The Lovinckhoeve" near Haren, The Netherlands.	1988	G. Ernsting, Free University, Amsterdam, The Netherlands.	Smit et al. (1996); "HA" in Stam et al. (1996) and in Crommentuijn (1995); Crommentuijn (1994)
PB	Plant pot, Paris, France.	1999	T. Tully, University Pierre & Marie Curie, Paris, France	
TO	Cave, Touasse Peyrou, Taurignan Vieux, Ariège, France.	2001	L. Deharveng & A. Bedos, National Museum of Natural History, Paris, France	Pike et al. (2004)
US	Corn field, Michigan, United States of America.	1995	H. Sjørnsen & C. Weidick Kærsgaard, Denmark. This strain probably originated from Renate Snider's laboratory (East Lansing).	
WI	Unknown, Wisconsin (?), United States of America.	<2001	M. Draney. <i>F. candida</i> were found in cultures of <i>Sinella curviseta</i>	

○ Table 2

Primer	Sequence	N° of bands
A7	GAAACGGGTG	11
A9	GGGTAACGCC	11
A10	GTGATCGCAG	11
A11	CAATCGCCGT	6
A18	AGGTGACCGT	8

Figure 1

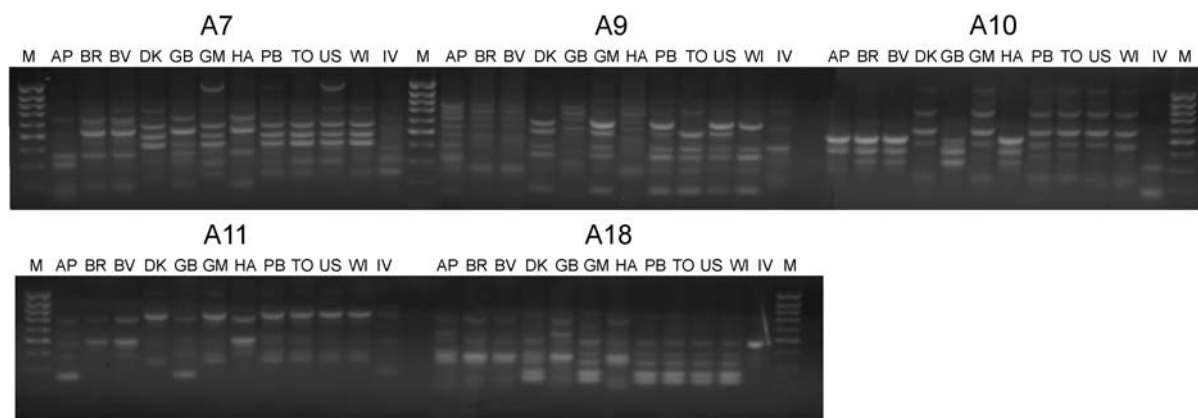
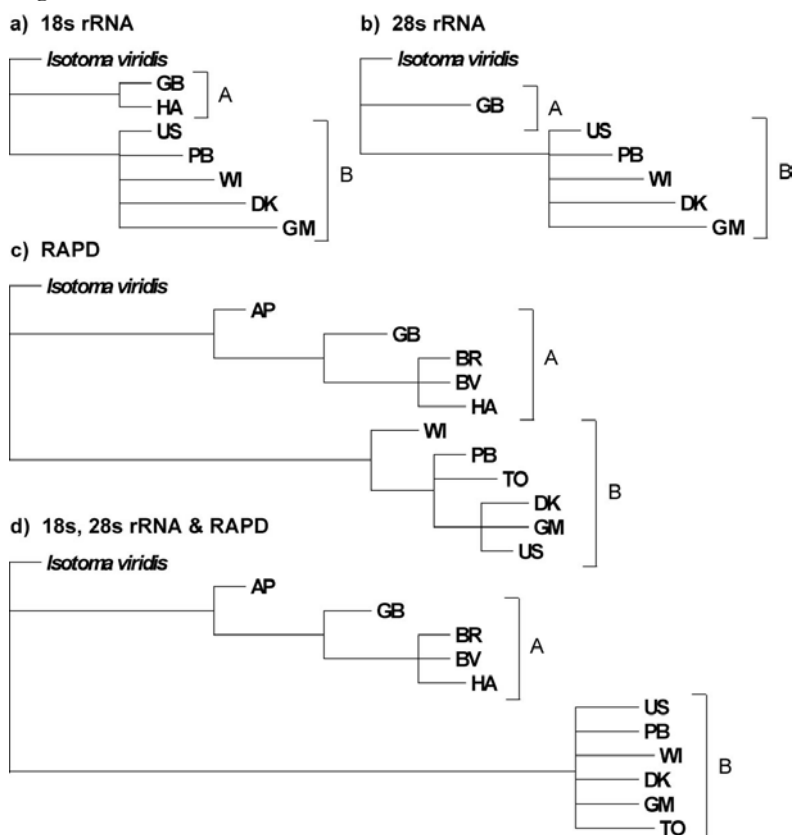


Figure 2



A VII The effect of autocorrelation in environmental variability on the establishment and persistence of populations: an experimental test, *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences*, 2004, 271, pp2143-2148



Received 19 April 2004

Accepted 9 June 2004

Published online 21 September 2004

The effect of autocorrelation in environmental variability on the persistence of populations: an experimental test

Nathan Pike^{1*}, Thomas Tully¹, Patsy Haccou² and Régis Ferrière^{1,3}

¹Laboratoire d'Écologie, École Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, Paris, 75005, France

²Institute of Biology, Leiden University, Kaiserstraat 63, NL-2311 GP Leiden, The Netherlands

³Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Arizona, Tucson, AZ 85721, USA

Despite its significance regarding the conservation and management of biological resources, the body of theory predicting that the correlation between successive environmental states can profoundly influence extinction has not been empirically validated. Identical clonal populations from a model experimental system based on the collembolan *Folsomia candida* were used in the present study to investigate the effect of environmental autocorrelation on time to extinction. Environmental variation was imposed by variable implementation (present/absent) of a culling procedure according to treatments that represented six patterns of environmental autocorrelation. The average number of culling events was held constant across treatments but, as environmental autocorrelation increased, longer runs of both favourable and unfavourable culling tended to occur. While no difference was found among the survival functions for the various treatments, the time taken for 50% of the component populations to become extinct decreased significantly with increasing environmental autocorrelation. Similarly, analysis of all extinct populations demonstrated that time to extinction was shortened as environmental autocorrelation increased. However, this acceleration of extinction can be fully offset if sequential introduction is used in place of simultaneous introduction when founding the populations.

Keywords: extinction risk; autocorrelation; red noise; environmental stochasticity; population viability

1. INTRODUCTION

The magnitude of environmental variation is widely acknowledged to be a crucial determinant of the dynamics of small populations (Leigh 1981; Goodman 1987; Lande 1993). Although it was initially assumed that this variation might be essentially random, it is now recognized that environmental fluctuations are usually temporally correlated (Nisbet & Gurney 1982; Cohen 1995; Halley 1996). A string of recent theoretical investigations has indicated that this environmental autocorrelation is also likely to be critical to the growth and decline of populations (Goodman 1987; Mode & Jacobson 1987; Rotenberg 1987; Caswell & Cohen 1995; Halley 1996; Johst & Wissel 1997; Petchey *et al.* 1997; Halley & Kunin 1999; Morales 1999; Petchey 2000; Holt *et al.* 2003).

Patterns in environmental variation are commonly described by using colour terminology based on analogy to the composition of light. White environmental variation is created when states of all frequencies in the environmental spectrum have equal influence, just as white light is created when photons of all frequencies in the visible spectrum have equal densities. There is no correlation between successive environmental states in such white noise. The more ecologically common situation is that infrequent environmental states have a disproportionately greater influence on populations than occasional or frequent states (i.e. the environmental noise spectrum is biased towards

low frequencies, or reddened). A consequence of having such long-term environmental oscillations is that the component states that produce them will usually be correlated with preceding states. It is also theoretically possible that populations could be subject to 'bluish' environments in which high-frequency environmental fluctuations would provide the dominant influence. In such cases, successive environmental states will be negatively correlated.

Theory has thus far been the predominant tool for predicting the influence of environmental autocorrelation on populations. The great majority of studies have concentrated on the issue of how interference between environmental noise colour and nonlinear processes may influence the regulation of large populations. Only a small subset of these studies has explicitly examined extinction in this context. It is predicted that, when population dynamics are overcompensatory, increased environmental autocorrelation will increase persistence, whereas autocorrelation will reduce persistence in populations with undercompensatory dynamics (Ripa & Lundberg 1996; Petchey *et al.* 1997). The related findings of Morales (1999) demonstrated that reddened noise increased extinction risk when the environmental variation affected the growth rate, but that it decreased extinction risk when the carrying capacity was affected. Johst & Wissel (1997) emphasized that the effects of increasing temporal correlation in environmental noise are highly dependent on the noise magnitude. Gonzalez & Holt (2002) used a protistan model system to provide empirical support for their theory that increased environmental autocorrelation can increase

* Author for correspondence (nathan.pike.1998@pem.cam.ac.uk).

Table 1. The environmental variation treatments used in the experiment.
(Culling rates for the two sub-treatments of treatment 6 are given in parentheses.)

treatment	starting state	probability of remaining in previous state	average culling rate	environmental treatment	colour
1	culling/respice	0	0.5	alternation	—
2	culling/respice	1/4	0.5	negative autocorrelation	bluish
3	culling/respice	1/2	0.5	no autocorrelation	white
4	culling/respice	2/3	0.5	positive autocorrelation	reddish
5	culling/respice	5/6	0.5	positive autocorrelation	reddish
6(a)	respice	1	0.5(0)	constant	—
(b)	culling		(1)		

population size in open-sink populations. Their prediction for closed-sink environments was that increased autocorrelation would enhance extinction. Indeed, in general, the prediction has been that increasing temporal correlation leads to increasing extinction risk (Mode & Jacobson 1987; Rotenberg 1987; Wichmann *et al.* 2003). The analysis of Inchausti & Halley (2003) was able to provide limited support for this prediction, using a multi-species population database to compare the reddening of population variability to the quasi-extinction time (the time it took for a 90% reduction in population to occur).

Although the precedent has been to deal with processes relevant to large populations, many naturally occurring cases of populations facing a risk of extinction involve relatively small populations, which are likely to be characterized by quite different population dynamics. Haccou & Vatutin (2003) dealt with the case of newly founded populations and were able to make predictions about the probability of ultimate extinction in response to different levels of environmental autocorrelation. They concurred with Wichmann *et al.* (2003) that negatively autocorrelated environments often decrease extinction risk, while positively autocorrelated environments may promote it. In addition, Haccou & Vatutin (2003) were able to show that environments with independently sequenced states may be expected to exert an intermediate effect. Significantly, the authors also provided evidence that, in positively autocorrelated environments, extinction risk can be markedly reduced if sequential rather than simultaneous introduction is used when founding the population. The reduction in extinction was expected to decrease significantly in negatively autocorrelated environments.

The current theoretical framework has thus begun to provide tools for predicting the probability of ultimate extinction. However, the effect of environmental autocorrelation on time to extinction has not been addressed. A forecasting tool for this relationship would hold tremendous utility. Although such a theoretical tool has not yet been developed, we might reasonably speculate that qualitatively similar trends to those expected for ultimate extinction may apply: increasing environmental autocorrelation may reduce time to extinction. We set out to (i) empirically test the validity of the theoretically predicted effect of autocorrelation on ultimate extinction, and (ii) extend our current knowledge by using a model biological system to produce a prediction for the relationship between

autocorrelation and time to extinction. Small clonal populations of springtails were used to assess these issues simultaneously with an examination of how the type of introduction (simultaneous versus sequential) may alter the observed effects. Findings on these issues hold immediate repercussions for the management and conservation of biological resources.

2. MATERIAL AND METHODS

(a) *Study organism*

Populations were composed of a single clone of the parthenogenetic collembolan species *Folsomia candida* (Willem) and were kept at 95–100% humidity and $21 \pm 0.5^\circ\text{C}$ with food (yeast pellets) available *ad libitum*. Under these conditions, eggs hatched *ca.* 10 days after laying and individuals became sexually mature 16 days after hatching. Populations were reared on a flat, wet plaster substrate inside sealed cylindrical phials 50 mm in diameter. This two-dimensional, circular substrate allowed population size to be easily quantified and facilitated a standardized technique for applying environmental variation—culling by surface area, which is described in § 2b.

(b) *Experimental design*

One hundred and forty populations were used in the experiment and each of these was founded by the introduction of five mature adults of *F. candida*. Seventy populations were founded by simultaneous introduction in which all five individuals were inserted on day 1 and 70 populations were founded by sequential introduction in which one individual was inserted on each of days 1, 5, 9, 13 and 17 of the experiment. Populations were tracked every 2 days for 66 days. Within each of the two subsets of 70 populations defined by introduction type, seven identical environmental variation treatments were applied to each of 10 replicate populations. Environmental variation was artificially induced by culling the individuals (including eggs) found on a contiguous, but randomly selected, area representing one-third of the surface of the rearing substrate. This culling had the potential to occur every two days, but the realized occurrence was adjusted according to treatment as set out in table 1.

Treatments 1–5 thus represented those exposed to environmental state changes. Equal numbers of replicate populations from each of these five treatments were assigned to each of the two possible starting states to prevent the amplification of initial inadvertent biases. Every two days, for each population, it was determined if culling should occur by taking a random number between 0 and 1 and comparing it with the pre-assigned probability of a

population's remaining in with previous state. If the number fell outside the stated probability, a state change was implemented. At the time of this assessment, and following culling if it took place, the number of adult individuals present was recorded and the presence or absence of nymphs and eggs was noted. If none of these remained, a population was declared extinct.

(c) Analysis

The survival responses of each population were assessed by plotting Kaplan–Meier survival curves and the differences between these were examined using Cox proportional hazards regressions. Treatments 1–5 were of particular interest because it was in these that the environmental state actually varied (within the scope permitted by the autocorrelation values pre-assigned to each). For these treatments, time to extinction was modelled using the following three factors.

- (i) *The probability of changing state.* This corresponds to the factor *treatment*, but provides for greater statistical power by allowing the degree of autocorrelation to be treated as a continuous variable.
- (ii) *Introduction type:* simultaneous or sequential.
- (iii) *Realized culling rate.* This was calculated by dividing the number of culling events by the total number of culling opportunities that had occurred before the population went extinct or the experiment ended.

Time values at which 50% of populations had become extinct were also recorded for each of the 12 population groups defined by the two types of introduction and the six different probabilities of remaining in the previous state. (To arrive at values for the population groups subjected to an environmental autocorrelation probability of 1, treatments 6a and 6b were combined.) This information was used in regression analysis as an indicator of how extinction rate may change with changing environmental autocorrelation and according to the type of introduction used to found the populations.

In an attempt to identify if components of recent history, for example runs of bad luck, directly contributed to extinction, the number of sequential culling events broken no more than once by a respite was calculated on day 42 for populations founded by simultaneous introduction. (Day 42 was chosen because approximately half of the populations were extinct at this time.) For extinct populations, the index was calculated for the days preceding extinction. For populations extant on day 42, the index was calculated backwards from day 40. This index, along with the realized culling rate, the introduction type, and the probability of remaining in the preceding state were used as predictor variables in a logistic regression against extinction status.

3. RESULTS

By the end of the experiment, 99 out of the 140 populations had become extinct. Survival analysis of the populations according to treatment and introduction type demonstrated that treatment 6a (the zero culling treatment in which no population became extinct) and treatment 6b (the constant culling treatment in which every population became extinct) were different both from one another and from the five other treatments. As treatments 6a and 6b represent the two states possible in the extreme case of absolute environmental autocorrelation (i.e. with a probability of 1 of remaining in the previous state), they were subsequently pooled in order to provide an indication of this extreme

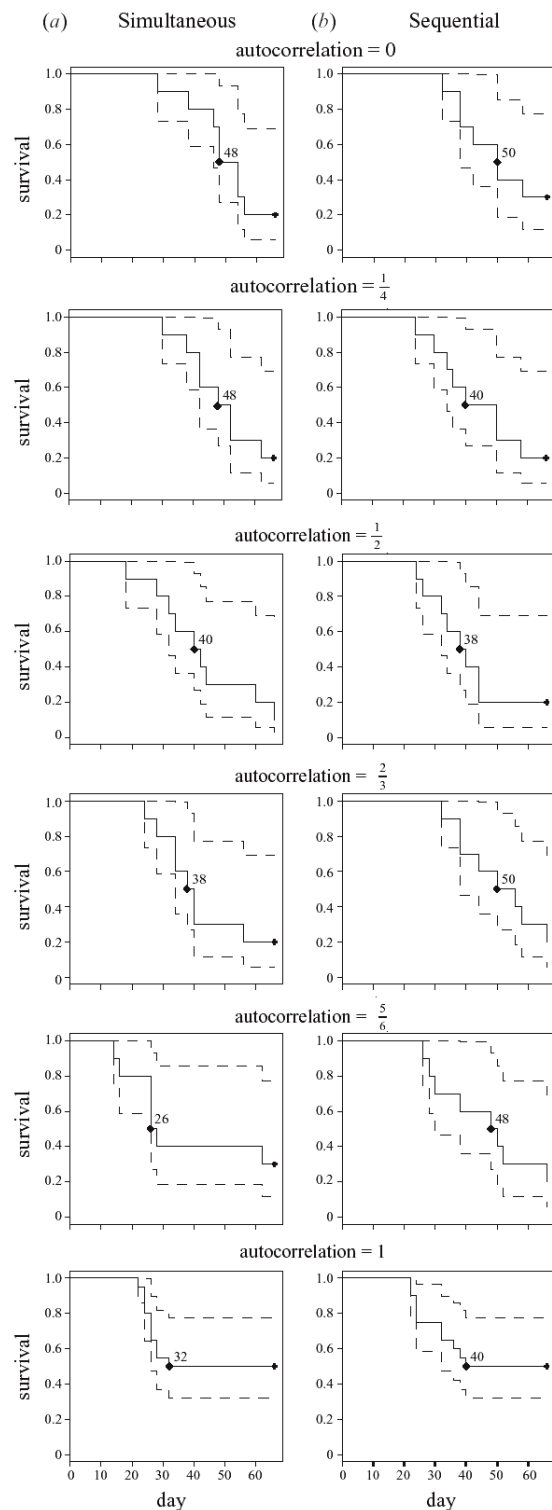


Figure 1. Kaplan–Meier survival curves for each of the six treatments in populations founded by either (a) simultaneous or (b) sequential introduction of five adult springtails. The solid line gives the survival curve estimated from 10 populations (20 populations for treatment 6), dashed lines indicate 95% confidence bands, and diamonds (with value labels) indicate times at which 50% of the populations had gone extinct.

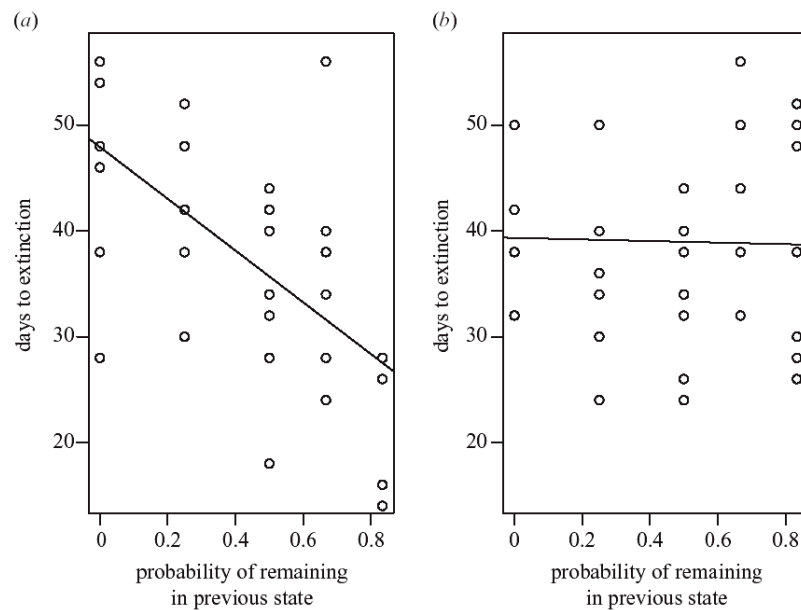


Figure 2. The effect of environmental autocorrelation on time to extinction in populations that became extinct on or before day 56 of the experiment. Data for (a) simultaneous and (b) sequential introduction are presented separately.

case's average effect. The survival curves for each of the autocorrelation treatments are set out in figure 1.

Ensuing survival analyses (parametric and non-parametric) which excluded treatments 6a and 6b failed to differentiate between any of the remaining curves based on probability of remaining in the previous state, introduction type or realized culling rate (or interactions between these factors, $p > 0.12$ in every case).

Regression analysis upon values for time to extinction of 50% of populations (indicated by filled diamonds in figure 1) demonstrated that this measure decreased with increasing environmental autocorrelation in populations founded by simultaneous introduction ($F_{1,4} = 17.79$, $p = 0.014$) whereas no trend was apparent in populations founded by sequential introduction ($F_{1,4} = 0.12$, $p = 0.75$). Similarly, regression analyses that were limited to populations that had become extinct within the first 28, 42, 56 or 66 days of the experiment all demonstrated one clear relationship between time to extinction and environmental autocorrelation. Data on populations that had become extinct within the first eight weeks of the experiment (on or before day 56, $n = 70$) have been arbitrarily selected for presentation. In populations founded simultaneously, the time to extinction decreased as the probability of remaining in the previous state increased ($F_{1,34} = 23.55$, $p < 0.001$; figure 2). By contrast, in populations founded sequentially, no trend was evident ($F_{1,32} = 0.019$, $p = 0.89$).

The logistic regression model for extinction status on day 42 found that the three-way interaction between (i) realized culling rate, (ii) introduction type and (iii) probability of remaining in the preceding state was significant ($F_{1,85} = 6.33$, $p = 0.012$). This indicates that the realized culling rate had a different influence on extinction status in simultaneously and sequentially founded populations, as well as on the different treatments within each of these groups. Sub-analysis found that the interaction between

the realized culling rate and environmental autocorrelation was significant only in a subset (notably treatments 4 and 5) of the sequentially founded populations. Recent history, as indicated by the chain of culling events immediately preceding extinction, was not found to exert a significant effect.

The negative relationship between environmental autocorrelation and time to extinction is likely to be related to the fact that variation in realized culling rates increased with increasingly positive environmental autocorrelation (figure 3), such that the culling level was often considerably greater or less than the level observed for uncorrelated or negatively autocorrelated environments.

4. DISCUSSION

The results suggest that the probability of ultimate extinction does increase with increasing environmental autocorrelation as expected, but there is insufficient statistical power to demonstrate this conclusively by comparing survival functions. However, a probable indicator of the probability of ultimate extinction (i.e. the time taken for 50% of populations to become extinct) provided empirical confirmation of the theoretical prediction. Our experiment also demonstrated the existence of a strong trend between environmental autocorrelation and time to extinction. Provided that extinction did occur, it tended to occur more quickly in environments that were positively autocorrelated. This finding calls for new theoretical developments to explain the precise details of the population processes that may underlie it (see Lande *et al.* 2003, pp. 33–34 for a possible approach).

The distinction between extinct and non-extinct trajectories made in our analysis of time to extinction is grounded in the theory of stochastic population dynamics (for which Caswell (2001) and Lande *et al.* (2003) provide comprehensive reviews). Small populations face non-zero

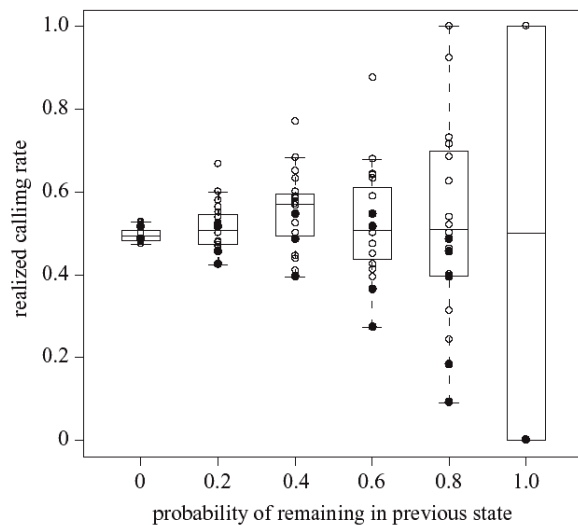


Figure 3. The spread in realized culling rates with increasing environmental autocorrelation. Box plots indicate medians, interquartile intervals and ranges of the rate values found within each of the six treatments. Open circles represent extinct populations and filled circles represent populations that remained extant at the end of the experiment.

probabilities of extinction in stochastic environments despite having positive growth rates because the effects of good and bad luck are most asymmetric at the earliest population stages. A run of bad luck should have little effect on a growing population that has persisted long enough to reach a large size whereas the same run may well cause extinction at an earlier stage when the population is still small. This asymmetry is the source of the somewhat non-intuitive prediction that mean time to extinction is shorter in faster-growing populations (e.g. Lande & Orzack 1988). In essence, extinction of growing populations tends to occur 'early or never' and it is this generalization that induced us to limit one part of our analysis to those population trajectories that became extinct over the course of the experiment.

The realized culling rate for the whole experimental period was found to influence extinction status predominantly in those treatments that were characterized by both sequential foundation and strong positive environmental autocorrelation. This result is consistent with expectations because an interaction between a high realized culling rate and a high environmental autocorrelation is equivalent to a long run of environmental bad luck. The asymmetric penalties that accompany such runs of bad luck may thus well have been responsible for the documented influence. The effect of these interacting terms was not seen in the simultaneously founded populations, as it may not have had the opportunity to arise. In such nascent populations in which potentially large stochastic effects are not offset by time-averaged introductions, single events or very short event sequences (that are below the limits of detection) may have pre-emptive influences on extinction. The fact that the chain length of culling events immediately preceding extinction did not have a significant effect on extinction may also indicate that the population dynamics of the study system often provided at least a partial buffer

against perturbations over periods shorter than the entire experimental duration. As one might expect, the additional role of luck, which determined how many springtails fell within the area to be culled, was also crucial. For example, two out of the three populations to go extinct before day 20 experienced a chain of five successive culling events. However, a number of equivalent populations also experienced such chain lengths but, by chance, enough individuals in these other populations were fortunate enough to fall outside the culling area and thus avoid extinction. The third population to become extinct before day 20 was exposed to culling only half of the time but, through bad luck, all individuals had fallen within the culling area by the time four non-consecutive culling events had occurred.

The current results thus provide strong indications that increasingly positive environmental autocorrelation may result in greater extinction risks. This finding bears significant repercussions for the conservation and management of biological resources and merits further verification at even larger experimental scales. Nevertheless, the potential for sequential introduction to counter hastened extinction trajectories in positively autocorrelated environments is remarkably clear. However, the sequences that maximize the population establishment probabilities of sequential introductions remain to be elucidated (although Haccou & Iwasa (1996) have provided a starting point with their theoretical demonstration that progressively increasing the lag between successive sequential introductions may reduce the chance of extinction in independently varying environments). The expeditious development of methods for determining the optimal timing and magnitude of sequential introductions on a case-by-case basis is thus warranted.

REFERENCES

- Caswell, H. 2001 *Matrix population models*. Sunderland, MA: Sinauer.
- Caswell, H. & Cohen, J. E. 1995 Red, white and blue: environmental variance spectra and coexistence in metapopulations. *J. Theor. Biol.* **176**, 301–316.
- Cohen, J. E. 1995 Unexpected dominance of high frequencies in chaotic nonlinear population models. *Nature* **378**, 610–612.
- Gonzalez, A. & Holt, R. D. 2002 The inflationary effects of environmental fluctuations in source-sink systems. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **99**, 14 872–14 877.
- Goodman, D. 1987 The demography of chance extinction. In *Viable populations for conservation* (ed. M. E. Soulé), pp. 11–34. Cambridge University Press.
- Haccou, P. & Iwasa, Y. 1996 Establishment probability in fluctuating environments: a branching process model. *Theor. Popul. Biol.* **50**, 254–280.
- Haccou, P. & Vatutin, V. 2003 Establishment success and extinction risk in autocorrelated environments. *Theor. Popul. Biol.* **64**, 303–314.
- Halley, J. M. 1996 Ecology, evolution and 1/f-noise. *Trends Ecol. Evol.* **52**, 91–100.
- Halley, J. M. & Kunin, W. E. 1999 Extinction risk and the 1/f family of noise models. *Theor. Popul. Biol.* **56**, 215–230.
- Holt, R. D., Barfield, M. & Gonzalez, A. 2003 Impacts of environmental variability in open populations and communities: 'inflation' in sink environments. *Theor. Popul. Biol.* **64**, 315–330.

- Inchausti, P. & Halley, J. M. 2003 On the relation between temporal variability and persistence time in animal populations. *J. Anim. Ecol.* **72**, 899–908.
- Johst, K. & Wissel, C. 1997 Extinction risk in a temporally correlated fluctuating environment. *Theor. Popul. Biol.* **52**, 91–100.
- Lande, R. 1993 Risks of population extinction from demographic and environmental stochasticity and random catastrophes. *Am. Nat.* **142**, 911–922.
- Lande, R. & Orzack, S. H. 1988 Extinction dynamics of age-structured populations in a fluctuating environment. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **85**, 7418–7421.
- Lande, R., Engen, S. & Saether, B.-E. 2003 *Stochastic population dynamics in ecology and conservation*. Oxford University Press.
- Leigh, E. G. J. 1981 The average lifetime of a population in a varying environment. *J. Theor. Biol.* **90**, 213–239.
- Mode, C. & Jacobson, M. E. 1987 On estimating critical population size for an endangered species in the presence of environmental stochasticity. *Math. Biosci.* **85**, 185–209.
- Morales, J. M. 1999 Viability in a pink environment: why ‘white noise’ models can be dangerous. *Ecol. Lett.* **2**, 228–232.
- Nisbet, R. M. & Gurney, W. S. C. 1982 *Modelling fluctuating populations*. New York: Wiley.
- Petchey, O. L. 2000 Environmental colour affects aspects of single-species population dynamics. *Proc. R. Soc. Lond. B* **267**, 747–754. (doi:10.1098/rspb.2000.1066)
- Petchey, O. L., Gonzalez, A. & Wilson, H. B. 1997 Effects on population persistence: the interaction between environmental noise colour, intraspecific competition and space. *Proc. R. Soc. Lond. B* **264**, 1841–1847. (doi:10.1098/rspb.1997.0254)
- Ripa, J. & Lundberg, P. 1996 Noise colour and the risk of population extinctions. *Proc. R. Soc. Lond. B* **263**, 1751–1753.
- Rotenberg, M. 1987 Effect of certain stochastic parameters on extinction and harvested populations. *J. Theor. Biol.* **124**, 455–471.
- Wichmann, M. C., Johst, K., Moloney, K. A., Wissel, C. & Jeltsch, F. 2003 Extinction risk in periodically fluctuating environments. *Ecol. Model.* **167**, 221–231.

A VIII Programme d'analyse d'image

A VIII 1) Comptage de population

○ A_compil

```
import ij.process.*;
import ij.plugin.*;
import java.awt.*;
import java.io.*;
import ij.*;
import ij.gui.*;
import ij.io.*;
import ij.util.*;
import ij.plugin.frame.Editor;
import ij.text.TextWindow;
public class A_compil implements PlugIn {
public void run(String arg) {
IJ.run("Compile and Run...",
"compile=J:\programmes\MainImage\plugins\pop\A_ouvrir.java
");
//IJ.run("Compile and Run...");
}}
```

○ A_compter

```
import ij.plugin.*;
import java.awt.*;
import java.io.*;
import ij.*;
import ij.io.*;
import ij.process.*;
import ij.gui.*;
public class A_compter implements PlugIn {
public void run (String arg) {
IJ.run("Analyze Particles...", "minimum=3 maximum=2000
bins=20 show=Nothing display stack");
IJ.run("Close", "stack");
IJ.selectWindow("Stack");
IJ.run("Close", "stack");
//IJ.run("Compile and Run...", path="C:\Documents and
Settings\tully\Mes
documents\sources\ImageJ\plugins\pop\A_ouvrir.java");
}}
```

○ A_manquant

```
import ij.*;
import ij.process.*;
import ij.gui.*;
import java.awt.*;
import ij.plugin.*;
public class A_manquant implements PlugIn {
public void run(String arg) {
IJ.run("Invert", "stack");
IJ.run("Z Project...", "start=1 stop=4 projection='Max Intensity'");
IJ.selectWindow("ZProjection of Stack");
IJ.run("Invert");
```

```
IJ.selectWindow("Stack");
IJ.run("Invert", "stack");
IJ.run("Image Calculator...", "image1='Stack' operation=Subtract
image2='ZProjection of Stack' stack");
IJ.selectWindow("ZProjection of Stack");
IJ.setThreshold(35, 255);
IJ.setTool(8);
IJ.selectWindow("Threshold");
}}
```

○ A_mesure

```
import ij.plugin.*;
import java.awt.*;
import java.io.*;
import ij.*;
import ij.io.*;
import ij.process.*;
import ij.gui.*;
public class A_mesure implements PlugIn {
public void run (String arg) {
IJ.selectWindow("ZProjection of Stack");
IJ.run("Close");
IJ.selectWindow("Stack");
IJ.run("Restore Selection");
IJ.run("Measure");
IJ.setThreshold(35, 255);
IJ.selectWindow("Threshold");
}}
```

○ A_ouvrir

```
import ij.plugin.*;
import java.awt.*;
import java.io.*;
import ij.*;
import ij.io.*;
import ij.process.*;
import ij.gui.*;
public class A_ouvrir implements PlugIn {
public void run (String arg) {
/* choix du dossier a analyser */
int c=1; //clon31
int r=1; //num 1epicat1
/*OpenDialog od = new OpenDialog("Choisir un fichier dans le dossier
source..", "");
if (od.getFileName()==null) return;
String dossier = od.getDirectory();*/
String dossier = "H:\photo-coll\pop\avril\06-26-03\";
String[] list = new File(dossier).list();
if (list==null) return;

IJ.run("Set Measurements...", "area fit display decimal=3");
```

```

String clone="";
//traite les différents clones
for (int j=c ; j<(c+1); j++) {
switch(j) {
case 1:
clone="AP";
break;
case 2:
clone="DK";
break;
case 3:
clone="GB";
break;
case 4:
clone="TO";
break;
case 5:
clone="US";
break;
}
//traite les divers replicats d'un clone
for (int i=r ; i<(r+1); i++) {
String num="";
switch(i){
case 1:
num="1";
break;
case 2:
num="2";
break;
case 3:
num="3";
break;
case 4:
num="4";
break;
}
open(dossier, clone, num);// ouvre les 4 images de la boite
/*IJ.selectWindow("ZProjection of Stack");
IJ.setThreshold(35, 255);
IJ.setTool(8);
IJ.selectWindow("Threshold");
*/
}} }
// ouvre les 4 images et crée l'image sans collembole
public void open(String dossier,String clone, String num)
{
IJ.run("Image Sequence...", "path="+dossier+clone+num+"1.JPG
increment=1 file="+clone+num);
/*IJ.run("Invert","stack");
IJ.run("Z Project...", "start=1 stop=4 projection='Max Intensity'");
IJ.selectWindow("ZProjection of Stack");
IJ.run("Invert");
IJ.selectWindow("Stack");
IJ.run("Invert", "stack");
IJ.run("Image Calculator...", "image1='Stack' operation=Subtract
image2='ZProjection of Stack' stack");
*/
}}

```

A IX Effet de la densité et de la disponibilité des ressources sur la fécondité

Nous présentons ici brièvement les résultats d'une petite expérience préliminaire pour décomposer les effets directs et indirect de la densité sur la fécondité des individus.

Pour chacun des deux clones utilisés dans cette expérience (GB et GM), 5 ou 50 adultes ont été placés dans des boîtes d'élevage standard. Ces deux niveaux de densité ont été croisés avec et trois régimes de nourrissage : nourriture constante (nourriture toujours présente dans le milieu), nourriture intermittente (nourriture disposée 4 jours par semaine : alternance de 4 jours avec et 3 jours sans nourriture) et enfin un traitement sans nourriture. Pour chaque traitement, deux réplifications ont été effectuées sauf pour les témoins sans nourriture ou seule une réplification a été faite. Pendant vingt jours les boîtes ont été inspectées tous les jours. Les œufs pondus et les mues ont été comptés puis ôtés de la boîte. Le nombre d'individus vivant a été compté (sur photo) ainsi que la proportion d'individus ayant mangé (abdomen contenant de la nourriture colorée en vert, cf. photo, Figure 116). Afin de s'affranchir de biais pouvant provenir d'effets précédant l'expériences, les analyses ont été effectuées en ne tenant pas compte des 5 premiers jours de données.

Tableau 18 Analyse de la fécondité moyenne par femelle et par jour.

Effect	χ^2	df	P	Est.	IC	Est.	IC
Intercept				-0.349	-4.031 ; 3.333	0.1295	-1.687 ; 1.946
Food	9.41	1	0.002	7.315	2.055 ; 12.575	7.0071	3.496 ; 10.518
Density	0.16	1	0.691	0.02337	-0.0767 ; 0.123		
Clone	0.04	1	0.849	0.1147	-4.625 ; 4.854		
Food*Density	6.80	1	0.009	-0.1460	-0.271 ; -0.0210	-0.1277	-0.191 ; -0.064
Food*Clone (GM)	5.27	1	0.022	5.7441	0.116 ; 11.372	5.3491	2.498 ; 8.200
Density*Clone	0.16	1	0.692	-0.01614	-0.1097 ; 0.0774		

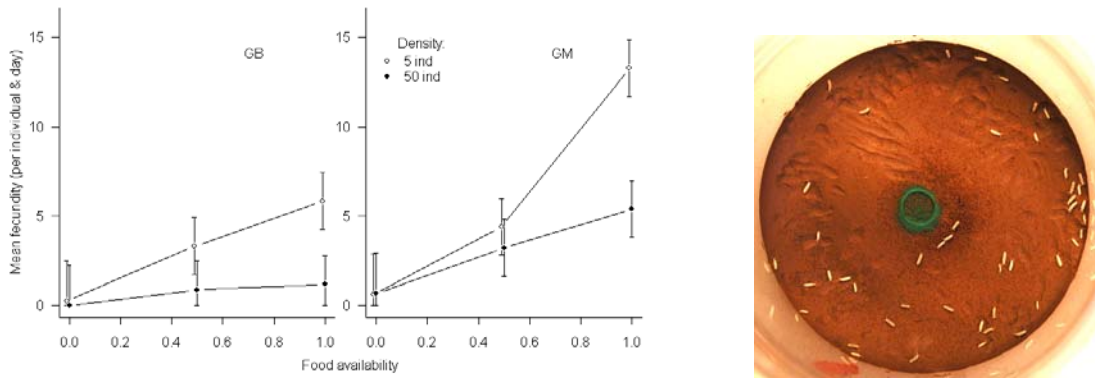


Figure 116 Fécondité moyenne (nombre d'œufs pondus par femelle et par jour) et intervalle de confiance à 95% pour les clones GB et GM à trois niveaux de nourriture (0 : pas de nourriture, 0.5 :nourriture présente 50% du temps, 1 : nourriture présente en permanence) et à deux niveaux de densité (5 ou 50 individus par boîte).

La fécondité moyenne des femelles est affectée par la disponibilité en nourriture : moins il y a de nourriture, moins les femelles pondent d'œufs. Mais cet effet de la nourriture varie à la fois en fonction de la densité locale de population ($\chi^2=6.8$, $df=1$, $P=0.009$) et en fonction de la génétique du clone ($\chi^2=5.27$, $df=1$, $P=0.022$). Il n'existe cependant pas d'effet additif simple ni de la densité ($\chi^2=0.16$, $df=1$, $P=0.69$) ni de la génétique ($\chi^2=0.04$, $df=1$, $P=0.84$) sur la fécondité puisque quel que soit la densité ou le clone, la fécondité lorsque aucune nourriture est présente est quasiment nulle (Intercept).

Fécondité moyenne (nombre d'œufs pondus par femelle et par jour) = $0.13 [-1.69 ; 1.95] + 7.00 [3.50 ; 10.52] * \text{nourriture} - 0.13 [-0.19 ; -0.06] * \text{densité} * \text{nourriture} + 5.35 [2.50 ; 8.20] * \text{GM} * \text{nourriture}$

Le clone GM a une fécondité plus élevée que le clone GB : à faible densité les femelles de GM pondent 1,8 fois plus d'œufs que leurs consœurs GB et à forte densité (50), la fécondité de GM est 7,5 fois plus élevée. La fécondité des femelles est aussi réduite par leur densité : lorsque la nourriture est abondante, une multiplication par dix de la densité (5 à 50 individus) induit une réduction de fécondité de 5.7 œufs en moyenne. Pour le clone GB, l'augmentation de densité entraîne une division par 8 de la fécondité moyenne des femelles tandis que pour le clone GM cet effet de la densité n'est que de deux. Il est intéressant de noter que la force des effets génétique et de densité de population sont du même ordre de grandeur. Globalement il semble que l'effet relatif de la densité est d'autant plus fort que le clone a une fécondité intrinsèque faible.

Résumé

L'objectif général de ce travail est de comprendre l'origine de la variabilité des traits d'histoire de vie à différentes échelles – chez un individu au cours de sa vie, entre individus partageant le même génotype, et entre génotypes différents – et sous différentes conditions environnementales. Nous avons étudié la variabilité, l'hérabilité, la plasticité et la flexibilité des traits d'histoire de vie, leurs corrélations phénotypiques et génétiques, et les différences d'expression de ces corrélations entre environnements.

L'analyse chemine le long du cycle de vie de notre organisme-modèle, le collembole parthénogénétique *Folsomia candida*, pour mettre successivement en lumière (1) les stratégies de croissance et de maturation, (2) les stratégies d'investissement dans la reproduction et de partage de cet investissement entre nombre et taille des œufs, et (3) les stratégies d'allocation entre reproduction et maintenance au cours de la vie. Ce dernier aspect du cycle de vie nous a conduit à analyser le déterminisme génétique et environnemental des patrons du vieillissement affectant survie et reproduction. Des individus issus de 11 lignées génétiques clonales ont été isolés et élevés dans des conditions contrôlées. Les différences d'expression des traits en fonction des conditions environnementales (disponibilité des ressources nutritives) ont été étudiées en contrastant un régime de nourriture *ad libitum* et un régime de restriction calorique, mimant ainsi deux contextes démographiques contrastés.

La plupart des traits analysés se sont révélés plastiques et héritables, et pour nombre d'entre eux, la plasticité elle-même est héritable. Les 11 clones étudiés peuvent être séparés en deux groupes biodémographiques qui correspondent à deux clades phylogénétiques. La stratégie biodémographique du premier groupe se caractérise par un potentiel reproducteur élevé mais qui ne peut s'exprimer qu'en présence de ressources abondantes. Ces clones souffrent d'une sénescence accélérée, et leur survie n'est guère améliorée par la restriction calorique. La stratégie du deuxième groupe se caractérise par une faible reproduction peu sensible à l'abondance des ressources alimentaires. La sénescence s'en trouve retardée, et la longévité s'accroît considérablement sous l'effet de la restriction calorique. Ces patrons suggèrent l'existence de compromis génétiques entre potentiel de survie et potentiel reproducteur.

Summary

The overall aim of this work is to understand the causes of variation of the life history traits (1) on various scales - at the scale of an individual during his life, between individuals sharing the same genotype, and between different genotypes - and (2) under various environmental conditions. We studied variability, heritability, plasticity and flexibility of the life history traits, their phenotypic and genetic correlations, and the differences in expression of these correlations between environments.

The analysis walks on along the life cycle of our model organism, the parthenogenetic springtail *Folsomia candida*, in order to clarify successively (1) the strategies of growth and maturation, (2) the reproductive investment strategies and partition of this investment between number and size of offspring, and (3) the allocation strategies between reproduction and maintenance during the lifespan. This last aspect of the life cycle led us to analyze the genetic and environmental determinism of patterns of ageing affecting survival and reproduction. Individuals resulting from 11 genetically different clonal strains were isolated and raised under controlled conditions. The differences in the expression of the traits according to the environmental conditions (availability of the nutritive resources) were studied by comparing two food regimes (unlimited food supply *versus* caloric restriction) thus simulating two contrasted demographic contexts.

Most of the analysed traits appeared to be plastic and heritable, and for some of them, plasticity itself was found to be heritable. The 11 studied clones can be separated into two distinct biodemographic groups which correspond to two phylogenetic unities. The biodemographic strategy of the first group is characterized by a high reproductive potential which expresses itself only when resources are plentiful. These clones suffer accelerated ageing, and their survival rate is hardly increased by caloric restriction conditions. The strategy of the second group is characterized by a weak reproductive potential which is not very sensitive to the food availability. They have a delayed senescence, and their longevity increase considerably under caloric restriction. This suggests the existence of a genetic trade-off between survival potential and reproductive potential.