



Université de Montréal

**La perception du temps et sa modulation par la température  
chez les guêpes parasitoïdes**

par

Jean-Philippe Parent

Département de Sciences Biologiques, Institut de Recherche en Biologie Végétale  
Faculté des Arts et des Sciences

Thèse présentée à la Faculté des arts et des sciences  
en vue de l'obtention du grade de doctorat  
en sciences biologiques

1<sup>er</sup> avril 2016

© Jean-Philippe Parent, 2016



## **Page d'identification du jury**

Université de Montréal  
Faculté des Études Supérieures et Postdoctorales

Cette thèse intitulée :  
La exception du temps et sa modulation par la température chez les guêpes parasitoïdes

présentée par :  
Jean-Philippe Parent

a été évaluée par un jury formé des personnes suivantes :

Frédérique Dubois, Ph.D.  
**Présidente-rapporteur**

Guy Boivin, Ph.D.  
**Co-directeur de recherche**

Jacques Brodeur, Ph.D.  
**Co-directeur de recherche**

Emma Despland, Ph.D.  
**Examineur externe**

Colin Favret, Ph.D.  
**Membre du jury**

Sébastien Rioux, Ph.D.  
**Représentant du doyen**

## Résumé

Les modèles d'optimalité postulent que les animaux en quête de ressources utilisent le taux de gain de valeur adaptative pour optimiser plusieurs comportements tels que la répartition du temps lors de l'exploitation d'un agrégat et l'investissement en progénitures. Bien que la durée de plusieurs comportements doit être régulée, peu d'évidences de la perception du temps sont actuellement disponibles pour les insectes et aucune pour les guêpes parasitoïdes, et ce malgré leur importance en tant que modèles écologiques. De plus, puisque les guêpes parasitoïdes sont poïkilothermes, cette capacité pourrait être affectée par la température. Nous avons supposé que les guêpes parasitoïdes auraient la capacité de percevoir le temps, à la fois de façon prospective (mesure du temps écoulé) et rétrospective (durée d'un événement passé), afin d'optimiser les décisions liées à l'exploitation d'agrégats d'hôtes et à la reproduction. Nous avons également émis l'hypothèse que la température aurait une incidence sur la perception du temps des guêpes parasitoïdes.

Pour la mesure prospective du temps, nous avons utilisé la capacité d'apprentissage associatif de *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). Les guêpes ont été entraînées à associer une odeur à la durée d'un intervalle entre des hôtes. Après leur entraînement, elles ont été testées dans un tunnel de vol avec un choix d'odeurs. Les guêpes ont choisi majoritairement l'odeur associée à l'intervalle de temps auquel elles étaient testées. Nous avons également investigué le rôle de la dépense énergétique sur la mesure du temps. Suite à une restriction de mouvement des guêpes pendant l'intervalle de temps entre les hôtes, elles choisissaient aléatoirement dans le tunnel de vol. L'absence de dépense énergétique les aurait rendues incapables de mesurer le temps. La dépense d'énergie est donc un substitut essentiel pour mesurer le temps.

Pour la mesure rétrospective du temps, nous avons utilisé le processus d'évaluation de l'hôte de *Trichogramma euproctidis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Certains trichogrammes utilisent la durée du transit initial sur l'œuf hôte afin d'en évaluer la taille et d'ajuster le nombre d'œufs à y pondre. Nous avons augmenté artificiellement la durée de transit initiale de *T. euproctidis* en suspendant l'œuf hôte pour le faire paraître plus gros qu'un œuf de taille similaire. Une augmentation de la durée de transit initiale a augmenté la taille de

la ponte. Ceci démontre la capacité de *T. euproctidis* de mesurer la durée du transit initial, et donc d'une mesure du temps rétrospective.

Pour déterminer si la température modifie la mesure du temps dans les espèces poïkilothermes, nous avons utilisé le comportement d'exploitation d'agrégats d'hôtes de *T. euproctidis*. Les modèles d'optimalités prédisent que les guêpes devraient rester plus longtemps et quitter à un faible taux de gain de valeur adaptative suite à un déplacement de longue durée plutôt que pour un déplacement de courte durée. Nous avons testé l'impact d'un déplacement de 24 h à différentes températures sur l'exploitation d'agrégats d'hôtes. Un déplacement à température chaude augmente le temps de résidence dans l'agrégat et diminue le taux de gain de valeur adaptative au moment de quitter ; ces comportements sont associés à un trajet de longue durée. L'inverse a été observé lors d'un déplacement à une température froide. Les températures chaude et froide ont modulé la mesure du temps en accélérant ou ralentissant l'horloge biologique, faisant paraître le déplacement respectivement plus long ou plus court qu'il ne l'était réellement.

Ces résultats démontrent clairement que les guêpes parasitoïdes ont la capacité de mesurer le temps, autant rétrospectivement que prospectivement. Des preuves directes de leur capacité sont maintenant disponibles pour au moins deux espèces de guêpes parasitoïdes, une composante essentielle des modèles d'optimalité. Le rôle de la dépense énergétique dans la mesure du temps a aussi été démontré.

Nos résultats fournissent également la preuve de l'impact de la température sur la perception du temps chez les insectes. L'utilisation de la dépense énergétique en tant que proxy pour mesurer le temps pourrait expliquer une partie de sa thermosensibilité, puisque les guêpes parasitoïdes sont poïkilothermes. Cette mesure du temps sensible à la température pourrait affecter des stratégies de lutte biologique. Sur le terrain, au début de la journée, la température de l'air sera similaire à la température de l'air autour des plantes infestées par des parasites, alors qu'elle sera plus chaude pendant la journée. En lutte biologique augmentative, les guêpes parasitoïdes libérées resteraient plus longtemps dans les agrégats d'hôtes que celles relâchées en début de journée.

**Mots clés** : Comportement animal – Mesure du temps – Température – Modèle d'optimalité - *Trichogramma*

## Abstract

Optimality models assume that animals foraging for resources use the rate of fitness gain to optimize several behaviours such as patch time allocation and progeny investment. Although the duration of multiple behaviors needs to be regulated, few evidence of time perception are currently available for insects and none for parasitic wasps, despite their importance as ecological models. This capacity to measure time could be affected by temperature, since parasitic wasps are poikilotherms. We hypothesized that parasitic wasps should have the capacity to perceive time, both prospectively (measure of elapsed time) and retrospectively (duration of a past event), in order to optimize foraging decisions related to host patch exploitation and reproduction. We also hypothesized that temperature would affect the time perception of parasitic wasps.

For the prospective measure of time, we used the associative learning abilities of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). We trained them to associate an odour to the duration of an interval between hosts. Following their training, they were tested in a wind tunnel. The wasps chose significantly more the odour associated with the test interval they were trained to recognize. We also looked into the role of energy expenditure in the measure of time. When wasps were prevented from moving freely during the interval between hosts, they chose randomly in the wind tunnel. The lack of energy expenditure thus rendered them unable to measure time. Energy expenditure is therefore an essential proxy to measure time.

For the retrospective measure of time, we used the host evaluation process of *Trichogramma euproctidis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Trichogramma* wasps use the duration of the initial transit on the host egg to evaluate its size and decide how many eggs to lay. We artificially increased the initial transit duration of *T. euproctidis* by suspending the host egg to make it appear larger than an unsuspending egg of the same size. An increase in initial transit duration increased clutch size in the host. This demonstrates the capacity of *T. euproctidis* to measure the duration of the initial transit duration, and therefore a retrospective measure of time.

To ascertain if temperature modified the measure of time in poikilotherms species, we measured the patch exploitation behaviour of *T. euproctidis* following intervals at different temperatures. Wasps are expected to stay longer and leave at a lower rate of fitness gain

following a long travel duration between host patches than for a short travel. We tested the impact of a 24 h travel duration at different temperatures on patch exploitation. An increase in temperature during travel time increased patch residence time and decreased the rate of fitness gain at departure, both of which are associated to an increase in travel time. The reverse was observed when travel occurred at a lower temperature. The increase or decrease in temperature affected the measure of time by speeding or slowing the clock respectively and making the travel appear longer or shorter than it actually was.

Our results clearly show that parasitic wasps are able to measure time, both retrospectively and prospectively. There is now solid evidence that at least two species of parasitic wasps possess the capacity to measure time, an essential component of optimality models. We now also have evidence that energy expenditure is one of the proxies used to measure time.

Our results are also the first evidence of the impact of temperature on time perception in insects. The use of energy expenditure as a proxy to measure time could explain some of its thermal-sensitivity, since parasitic wasps are poikilotherms. This temperature sensitive measure of time could affect biological control strategies. In augmentative biological control, releasing parasitic wasps during the day could lead to a higher level of patch exploitation than early in the day because of the temperature gradient between the air and the plants.

**Key words:** Animal behaviour – Measure of time - Learning – Temperature – Optimality model – *Trichogramma*



## Table des matières

Page d'identification du jury .....	iii
Résumé .....	iv
Abstract.....	vi
Table des matières.....	viii
Liste des tableaux.....	x
Liste des figures .....	xi
Liste des symboles et abréviations.....	xiv
Remerciements.....	xv
Aperçu de la thèse .....	xvii
Chapitre 1: Introduction générale .....	1
Chapitre 2: Revue de littérature .....	3
2.1 Temps : Définition et perception.....	3
2.2 Modulation de la perception du temps et température .....	10
2.3 Écologie et perception du temps .....	13
2.4 Modèles biologiques.....	17
Chapitre 3: Contribution de l'auteur et des coauteurs.....	21
Chapitre 4: Time perception-based decision-making in a parasitoid wasp.....	24
4.1 Abstract.....	25
4.2 Introduction.....	26
4.3 Materials and Methods .....	27
4.4 Results.....	29
4.5 Discussion .....	31
4.6 Acknowledgements .....	33
4.7 References.....	34
Chapitre 5: Around the globe in a few seconds: use of time perception in a decision-making process by a parasitoid .....	38
5.1 Abstract.....	39
5.2 Introduction.....	40

5.3 Materials and Methods .....	41
5.4 Results.....	44
5.5 Discussion .....	45
5.6 Acknowledgements .....	47
5.7 References.....	48
Chapitre 6: Size and age as determinants of walking speed in insects .....	52
6.1 Abstract.....	53
6.2 Introduction.....	54
6.3 Materials and Methods .....	55
6.4 Results.....	58
6.5 Discussion .....	63
6.6 Acknowledgements .....	67
6.7 References.....	68
Chapitre 7: Thermal dilation of time: Impact of temperature on perceived travel duration in a parasitoid .....	77
7.1 Abstract.....	78
7.2 Introduction.....	79
7.3 Methods .....	81
7.4 Results.....	84
7.5 Discussion .....	86
7.6 Acknowledgements .....	88
7.7 References.....	89
Chapitre 8: Discussion générale.....	93
Références .....	101
Appendice I: Autre activités et accomplissements durant le Ph.D. ....	I

## Liste des tableaux

<b>Table 5-1:</b> Duration (seconds; median [Q1 – Q3]) of behaviours expressed by <i>Trichogramma euproctidis</i> when exploiting a <i>T.ni</i> egg suspended (short vs. long suspension) or not. See Methods for a description of the treatments. ....	45
<b>Table 6-1:</b> Relationship between walking speed and size in Hymenoptera species. Ratios are the proportion of maximum / minimum values of both size and speed. For the ratio columns: a value =1 means that the value did not change; a value >1 means an increase. For the relation column: “+” means a positive relationship between size and walking speed; “no” means there is no relationship between size and walking speed. ....	59
<b>Table 6-2:</b> Relationship between walking speed and age in insect species. Ratios are the proportion of maximum / minimum values of both age and speed. For the ratio columns: a value <1 means a decrease; a value of 1 means that the value did not change; a value >1 means an increase. For the relation column: “+” means a positive relationship between age and walking speed; “-“ means a negative relationship between age and walking speed; “no” means there is no relationship between age and walking speed. ....	60
<b>Table 7-1.</b> Description of temperature treatments prior to and during ‘travel’ of <i>Trichogramma euproctidis</i> wasps to standardize their physiological age, expressed in cumulative degree-hour (d-h), when reaching the 2 <sup>nd</sup> patch. Parasitoids were exposed to different combinations of three 24 h temperature (T). The 3 <sup>rd</sup> 24 h temperature exposition corresponds to the ‘travel temperature’ .....	83
<b>Table 7-S.</b> Comparison of different order of temperature expositions prior to travel temperature for exploitation behaviours (mean ± SE) of <i>Trichogramma euproctidis</i> in patches of <i>Ephestia kuehniella</i> eggs. In all cases, there was no effect of the order of temperature exposition, using Wilcoxon tests. See text of Material and Methods for more information. ....	83

## Liste des figures

- Figure I-1:** Schéma de l'organisation de la thèse. Les thèmes principaux abordés dans cette thèse dans se trouvent dans la colonne de gauche et les chapitres correspondants dans la colonne de droite. ....xvii
- Figure 2-1.** Diagramme représentant le modèle de Scalar Expectency Theory (Gibbon et al. 1984).....5
- Figure 2-2.** Nombre d'impulsions (cercles) à différentes températures pour une même durée d'intervalle lors d'une mesure rétrospective du temps.  $t$  = durée d'un intervalle de temps; bleu : température froide, noir : température moyenne; rouge : température chaude. .... 12
- Figure 2-3.** Temps de réponse pour un même temps perçus (temps subjectif représenté par le même nombre d'impulsions) pour une mesure prospective du temps à différentes températures.  $t$  = temps avant la réponse comportementale à température moyenne; bleu : température froide, noir : température moyenne; rouge : température chaude;  $x$  et  $y$  = valeur indéterminées..... 13
- Figure 2-4.** Représentation graphique du Théorème de la Valeur Marginale (Charnov 1976; Kacelnik & Todd 1992) (modifiée de Louâpre 2011). A : Le départ d'un agrégat survient lorsque le taux de gain instantané est égal au taux de gain moyen de l'environnement. B : Le temps de résidence optimal dans un agrégat ainsi que le taux de gain instantané au départ sont fonction du temps de déplacement entre les agrégats..... 16
- Figure 2-5.** *Trichogramma euproctidis* parasitant un œuf de *Trichoplusia ni*. (Photo: J.-P. Parent)..... 18
- Figure 4-1.** Example of a training timeline of *Microplitis croceipes* for association between a short interval and the odour of strawberry and a long interval with the vanilla odour. **V** = vanilla odour; **S** = strawberry odour. Short interval = 5 min, Long interval = 30 min. Sections in black represent periods where the parasitoid wasp is isolated in a tube. "Odour + host" means that a host is present with the odour, while "Odour - host" means that no host is present with the odour. Host frass is included in all steps, except when parasitoid wasps are tested in the wind tunnel. ....28
- Figure 4-2.** Number of *Microplitis croceipes* parasitoid wasps responding to odours associated to a short (5 min) or a long (30 min) interval of time between *Helicoverpa armigera*

larvae encounters, depending on the test interval duration (Short: n=39; Long: n=38). The difference between short and long test intervals was compared with a Fisher Exact Test. Differences between the odours associated with a short or long interval for the same test interval duration were tested with a  $\chi^2$  test. \*\* = P < 0.01; \*\*\* = P < 0.001.....30

**Figure 4-3.** Response of *Free* or *Restrained* females *Microplitis croceipes* to odours associated with the test interval or the odours not associated with the test. *Free* females were isolated in a vial where they can move (n=24), while *Restrained* females were isolated in a vial where movement was impeded by a cotton ball (n=24). The response to odour of *Free* and *Restrained* parasitoid wasps was tested with a Fisher Exact Test. The responses to odours associated or not with the test interval were tested with a  $\chi^2$  test. N.S. = P > 0.05; \* = P < 0.05; \*\* = P < 0.01. For details on test intervals and odours, see legend of Figure 1.....31

**Figure 5-1.** Experimental setup for host suspension. The egg (*Manduca sexta* or *Trichoplusia ni*) is glued to the tip of a glass needle, which is fixed to the inside of a camera (lens is seen on top). Once *Trichogramma euproctidis* is on the host (A), during the initial transit, the camera is lifted from the ground together with the egg (B). The wasp can then walk freely all around the host until the camera is lowered back to the initial position.....42

**Figure 5-2.** Number of *T. euproctidis* larvae developing in *Manduca sexta* host (model fit  $\pm$  95 % CIs) in relation to the initial transit duration on a suspended host egg.  $Y = 0.2x + 16.0$ ;  $r^2 = 0.350$ ;  $P < 0.001$  .....45

**Figure 6-1.** Relationships between walking speed ratio (Log-transformed data) and A) size ratio (data from table 1) and B) age ratio (data from table 2) for various insect species. Ratios were calculated by dividing the maximum value with the minimum value. A log transformation was applied to the ratios for the linear mixed model. Trendlines show the predictions of the fixed effects of the linear mixed model ( $\pm$  SE) fitted to the data. ....61

**Figure 7-1.** Effect of travel temperature on (A) Patch residence time, (B) Time motionless, (C) Active exploitation time, (D) Rate of fitness gain at departure and (E) Number of hosts parasitized of *T. euproctidis* females in a patch of 49 *E. kuehniella* eggs following travel (isolation period of 24 h) at different temperatures (14, 24 and 34°C). To ease visualization of the results, data points were jittered around the exact travel temperature value. Trendlines show the predictions ( $\pm$  SE) of a linear regression fitted to the data for

figures 1A, B and C: \*\*\* indicates  $p < 0.001$ . Trendlines show the predictions ( $\pm$  SE) of a GLM with Poisson errors fitted to the data for figures 1D and 1E: \*\*\* indicates  $p < 0.001$ ; n.s. indicates  $p > 0.05$ .....85

## Liste des symboles et abréviations

BeT – « Behavioural Theory of Timing » (Killeen & Fetterman 1988)

CI – « Confidence Interval »

et al. – et collaborateurs

GLM – « Generalized Linear Model »

LeT – « Learning-to-Time Theory » (Machado 1997)

n – taille de l'échantillon

SE – « Standard Error »

SET – « Scalar Timing Model » (Gibbon 1977)

TT – « Tuned-Trace Theory » (Staddon et al. 2002)

## Remerciements

Je voudrais premièrement remercier mes superviseurs, Guy Boivin et Jacques Brodeur pour leur support tout au long de ce périple qu'est le doctorat. Il faut des directeurs ouverts d'esprit et curieux pour axer une thèse sur la perception du temps des parasitoïdes! Guy, avec sa disponibilité, sa bonne humeur, sa sagesse et sa philosophie « il n'y a pas de mauvais résultats d'expériences » en font un directeur de thèse sans égal. Jacques, avec son support, ses commentaires bien dirigés et la grande autonomie qu'il m'a laissé ont permis de diriger ce projet et de grandir en tant que scientifique. Un grand merci pour leur patience et leur rapidité lors des derniers mois de cette thèse, où je les ai bombardés de textes à lire.

I would also like to thank Professor Takasu. Takasu-sensei allowed me to visit his lab for a whole summer, working on associative learning and time perception. His expertise was key of the success of a chapter of this thesis, and I am truly grateful for the opportunity he gave me. I would also like to thank Takano-san, Urakawa-san and Keiko for their help during my stay.

En plus d'avoir des directeurs de thèse géniaux, j'ai aussi eu un environnement de travail de grande qualité, et ce grâce à tout un réseau de support. Je me dois de mentionner l'apport incommensurable fourni par Danielle Thibodeau, Julie Frenette et Josiane Vaillancourt à St-Jean-sur-Richelieu. Toujours disponibles et de bonne humeur (je n'arrive pas à me souvenir de froids ou de malaise pendant l'ensemble de mon séjour!), elles ont été importantes tant pour la science que pour la joie de vivre, que ce soit au moment du dîner ou en jouant au volleyball (ou au badminton « en famille »).

Un autre élément essentiel du support moral que j'ai obtenu au long de mon doctorat est venu de mes collègues. Autant pour les conversations scientifiques (et moins scientifiques) que pour les collaborations en passant par les soirées cinéma, je fus sans cesse entourer de gens de qualité. Un énorme merci à toutes les personnes que j'ai cotoyées pendant ces dernières années : Alessandro Dieni, Alexandre Leblanc, Félix-Antoine Robert, Joffrey Moiroux, Josée Doyon, Julie Augustin, Lin Gongyu (Xiaoyu), Marie-Ève Lanteigne et Paul Abram.

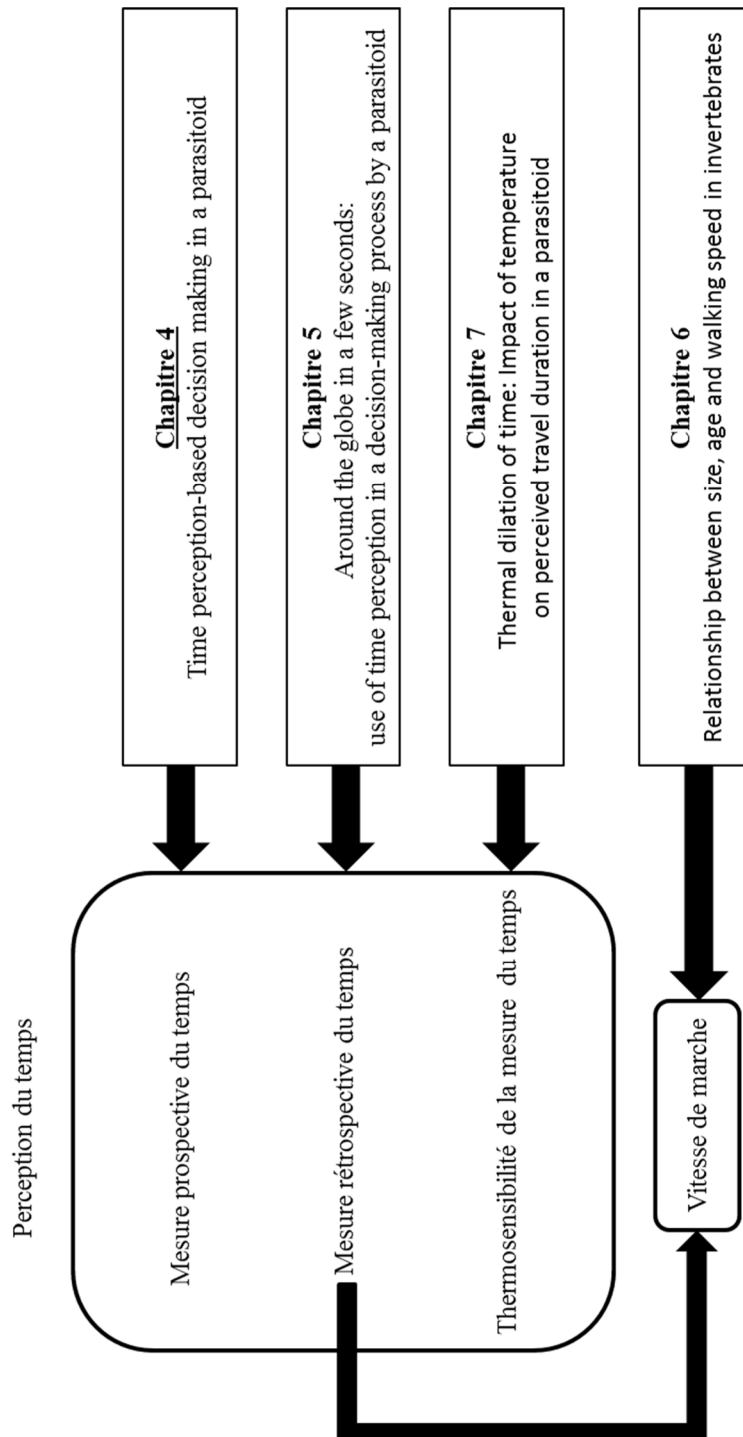
Tout au long de mon doctorat, j'ai reçu du financement de plusieurs sources. Je prends donc cet espace pour remercier le Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et Génie



(bourse doctorale), l'Institut de Recherche en Biologie Végétale (bourses Jacques-Rousseau), le Centre de Sciences de la Biodiversité du Québec (bourse d'assistance à un congrès international), la Société d'Entomologie du Canada (bourse étudiante) et l'Université de Montréal (bourse de fin d'études).

Finalement, je tiens à remercier ma famille. Elsa, ma partenaire de vie, m'a toujours encouragé à me lancer dans ce projet fou de doctorat, et ce même si elle doute toujours de l'existence des trichogrammes. Puis, mon père Mario, ma mère Denise et mon frère Marco ont à leur façon, depuis ma tendre enfance, façonné la personne que je suis aujourd'hui. C'est grâce à eux et leur soutien que je dépose enfin cette thèse.

## Aperçu de la thèse



**Figure I-1:** Schéma de l'organisation de la thèse. Les thèmes principaux abordés dans cette thèse se trouvent dans la colonne de gauche et les chapitres correspondants dans la colonne de droite.

**Chapitre 1.** Ce chapitre, l'introduction, décrit le contexte général de la recherche réalisée dans le cadre de ce doctorat et présente les objectifs principaux.

**Chapitre 2.** Ce chapitre, la revue de littérature, décrit les concepts scientifiques et les modèles biologiques nécessaire au lecteur pour apprécier les chapitres suivants.

**Chapitre 3.** Dans ce chapitre, j'identifie ma contribution ainsi que celle de mes coauteurs aux articles scientifiques contenus dans cette thèse.

**Chapitre 4.** Le premier article scientifique de cette thèse s'intitule "Time perception-based decision making in a parasitoid wasp". Dans ce projet, j'ai démontré la perception du temps prospective chez une guêpe parasitoïde en associant une odeur à un intervalle de temps entre des hôtes.

**Chapitre 5.** Le deuxième article scientifique de cette thèse s'intitule "Around the globe in a few seconds: use of time perception in a decision-making process by a parasitoid". Dans cette étude, j'ai démontré la perception du temps rétrospective chez une guêpe parasitoïde en manipulant leur évaluation de la taille de l'hôte.

**Chapitre 6.** Le troisième article scientifique, intitulé "Relationship between size, age and walking speed in invertebrates", décrit la relation entre la vitesse de locomotion et la taille, la masse et l'âge chez les invertébrés.

**Chapitre 7.** Le quatrième article scientifique, intitulé "Thermal dilation of time: Impact of temperature on perceived travel duration in a parasitoid", démontre la sensibilité de la mesure du temps à la température chez une guêpe parasitoïde, cela en faisant varier la température durant le déplacement entre les agrégats d'hôtes.

**Chapitre 8.** Ce chapitre, la discussion générale, résume les résultats principaux, commente les implications des résultats obtenus et suggère des directions pour de futures recherches.

## Chapitre 1: Introduction générale

Afin de maximiser leur valeur adaptative (fitness) à vie, les organismes doivent optimiser leur comportement immédiat en intégrant une multitude de signaux internes et externes. Plusieurs modèles d'optimisation ont été développés pour prédire le comportement animal, dont le théorème de la valeur marginale (Charnov 1976). Ces modèles se basent sur le taux de gain de valeur adaptative, c'est-à-dire le gain de valeur adaptative par unité de temps. Les animaux doivent moduler leur comportement selon la durée de certaines activités. Par exemple, lors de l'exploitation d'un agrégat, les animaux utiliseraient entre autre le temps de transit pour optimiser leur gain de valeur adaptative immédiate (Charnov 1976; Stephens & Krebs 1986; Adler & Kotar 1999). Ces modèles ont donc pour postulat que les organismes possèdent la capacité de mesurer le temps. Cette démonstration n'a encore jamais été faite chez les insectes parasitoïdes.

Malgré l'importance du temps dans l'optimisation des comportements, ce sujet a fait l'objet de très peu d'études chez les animaux (revue par Clayton et al. 2009). Encore plus rares sont les études chez les insectes (Grossman 1973; Schmidt & Smith 1987; Boisvert & Sherry 2006; Boisvert et al. 2007). La majorité de ces études ont porté sur la mesure prospective du temps (agir après un temps  $t$ ), mais très peu ont testé la capacité des invertébrés de faire une mesure rétrospective du temps (déterminer la durée d'un évènement  $x$ ).

De plus, les insectes étant des poïkilothermes, des changements de températures ambiantes, que ce soit une variation quotidienne ou sur une plus longue période, pourraient influencer la perception du temps des insectes à travers une modification du métabolisme. Ainsi, le comportement des insectes en serait affecté, ce qui pourrait les éloigner de l'optimalité. De plus, la mesure prospective du temps serait, en théorie, plus sensible à un effet de la température que la mesure rétrospective (Wearden & Penton-Voak 1995).

Dans le cadre de cette thèse, j'examinerai la capacité de mesurer et percevoir le temps chez les guêpes parasitoïdes en utilisant différents modèles biologiques et situations écologiques, en plus de mesurer l'impact de la température sur le temps perçu.

Mes objectifs étaient de :

- (1) Démontrer la capacité des guêpes parasitoïdes à mesurer le temps de façon prospective.  
Hypothèse : Les guêpes parasitoïdes peuvent apprendre à associer une odeur à une durée de déplacement entre des hôtes.
- (2) Démontrer la capacité des guêpes parasitoïdes à mesurer le temps de façon rétrospective.  
Hypothèse : Les guêpes trichogrammes utilisent la durée du transit initial sur un hôte pour évaluer sa taille et ajuster le nombre d'œufs à y pondre.
- (3) Déterminer la relation entre la taille et l'âge sur la vitesse de marche de *T. euproctidis*.  
Hypothèse : La vitesse de marche augmente avec la taille et diminue avec l'âge, sauf chez des espèces qui utilisent la vitesse de marche comme outil de mesure.
- (4) Évaluer la thermosensibilité de la mesure du temps des guêpes parasitoïdes.  
Hypothèse : La température lors d'un déplacement entre des agrégats d'hôtes aura un effet sur la durée perçue et donc sur le comportement d'exploitation de l'agrégat.

Les hypothèses et prédictions de chacun de ces objectifs seront décrites plus en détail dans les chapitres suivants.

## Chapitre 2: Revue de littérature

### 2.1 Temps : Définition et perception

Le temps se définit comme une notion fondamentale d'une dimension infinie dans laquelle les événements se succèdent (Ornstein 1969). La perception du temps réfère à la fois au rythme circadien d'un organisme, qui fait référence au moment de la journée, ainsi qu'à la capacité de mesurer le temps qui passe.

Le rythme circadien est une oscillation d'un processus biochimique, physiologique ou comportemental, centrée sur une période de 24 h en conditions naturelles, synchronisée par les cycles de lumière/obscurité (Hastings & Schweiger 1976; Sweeney 1976). Ces cycles, connus sous le nom de *zeitgebers*, sont définis comme un signal environnemental qui réinitialise l'horloge biologique, ce qui prévient la dérive temporelle, puisque le rythme circadien sans signaux est approximativement, mais pas exactement, de 24 h (Spangler 1972, 1973; Kaiser & Steiner-Kaiser 1983). Un des premiers modèles biologiques utilisé pour étudier le rythme circadien a été l'abeille. Ces études consistaient à offrir de la nourriture à des moments précis de la journée sur une base régulière. Les abeilles visitaient ces sources de nourriture à la même heure les jours suivants, que la ressource soit présente ou non (Pahl et al. 2007). Les parasitoïdes sont aussi connus pour ajuster certains de leurs comportements selon le rythme circadien. Par exemple, l'émergence des guêpes trichogrammes est affectée par le moment de la journée, concentrant principalement les émergences le matin (Pompanon et al. 1993; Pompanon et al. 1995).

La quantité de temps qui passe réfère au présent, au passé, au futur et au simultané (Ornstein 1969). Le présent réfère à des intervalles de courtes et moyennes durées, des rythmes et des réponses anticipatoires. Le passé réfère à des intervalles de longues durées et à la mémoire à long terme. Le futur fait référence à la perspective temporelle et à la planification. Le simultané fait référence à la succession ou à la simultanéité d'événements dans le temps. La majorité des études sur la mesure du temps portent sur des intervalles de courtes et moyennes durées, dans le présent. Le présent sera le seul focus de cette thèse.

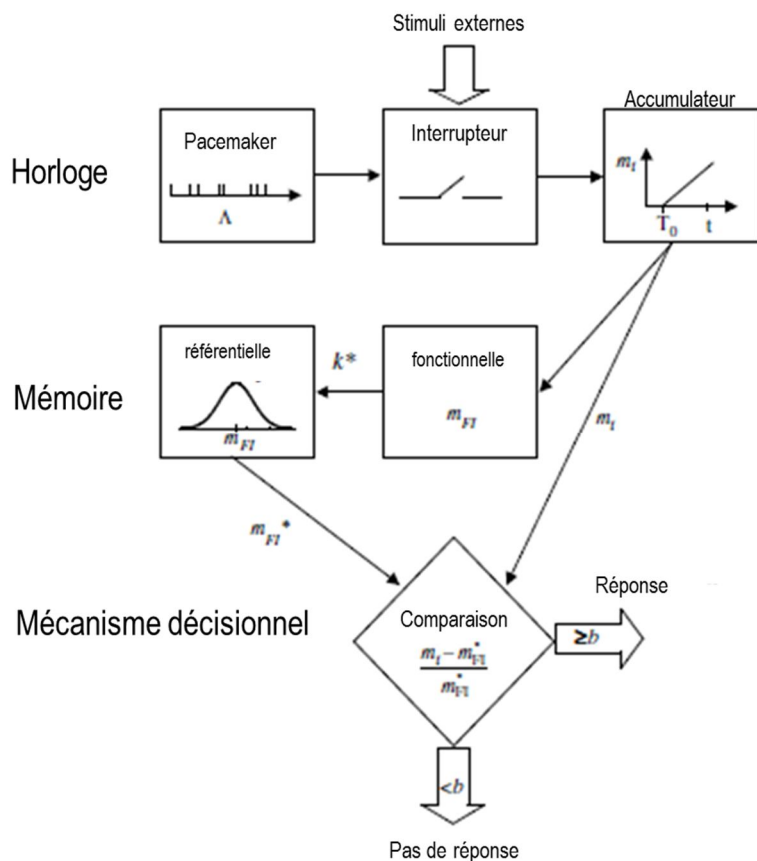
Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer la mesure d'intervalles de temps : on retrouve entre autre le « Tuned-Trace Theory » (TT; Staddon et al. 2002), le « Behavioural

Theory of Timing » (BeT; Killeen & Fetterman 1988), le « Learning-to-Time Theory » (LeT; Machado 1997) et le « Scalar Timing Model » (SET; Gibbon 1977).

Le « Tuned Trace Theory » est un modèle qui évacue complètement le concept d'horloge interne. Il est entièrement basé sur la mémoire et utilise le taux d'oubli pour déterminer la durée d'un intervalle de temps. Lors d'un entraînement à intervalle fixe (une récompense offerte à un intervalle donné à répétition), l'animal apprend que la récompense est disponible lorsque la mémoire de l'évènement passé se dégrade jusqu'à un certain seuil.

Les autres modèles, le « Behavioural Theory of Timing », le « Learning-to-Time Theory » et le « Scalar Expectancy Theory », utilisent un « pacemaker » comme horloge pour mesurer la durée d'intervalle de temps. Le « Behavioural Theory of Timing » se base sur la corrélation entre des séquences de comportements et un intervalle de temps. Lors d'un entraînement à intervalle fixe, un animal fait un comportement A, puis un comportement B, etc. puis un comportement N juste avant la nouvelle récompense. Si l'intervalle de temps est bien corrélé à la séquence de comportement, il est possible pour l'organisme de savoir quand la récompense sera disponible en se référant à l'endroit où il se retrouve dans sa séquence. Le pacemaker est utilisé pour passer d'un comportement à l'autre dans la séquence. Le « Learning-to-Time Theory » est très semblable au « Behavioural Theory of Timing », si ce n'est qu'il met une plus grande emphase sur l'association et le renforcement de comportement ou d'état avec la disponibilité de la récompense. Lors d'un entraînement à intervalle fixe, les comportements exprimés lorsque la récompense devient disponible sont renforcés alors que ceux exprimés bien avant ou bien après sont dissociés.

Selon le « Scalar Expectancy Theory » (Gibbon 1977; Gibbon et al. 1984), trois composantes sont essentielles pour permettre la mesure de durées: un système d'horloge qui convertit des durées en une représentation physique, une mémoire capable de représenter ou d'emmagasiner une durée perçue ainsi qu'un mécanisme décisionnel utilisant l'horloge et la mémoire pour influencer le comportement (Church 1997) (Figure 2-1). Ce dernier aspect est ce qui le distingue le plus du « Behavioural Theory of Timing » et du « Learning-to-Time Theory ».



**Figure 2-1.** Diagramme représentant le modèle de Scalar Expectancy Theory (Gibbon et al. 1984)

Le système d'horloge biologique se compose d'un pacemaker, d'un interrupteur et d'un accumulateur. Le pacemaker, par exemple un cycle métabolique, émet des impulsions à une fréquence fixe. Lorsque l'interrupteur est ouvert, les impulsions se perdent. Lorsque l'interrupteur est fermé, c'est-à-dire lorsqu'un individu veut mesurer une durée, les impulsions sont dirigées vers l'accumulateur. L'accumulateur emmagasine les impulsions du pacemaker, ce qui permet d'estimer une durée. Cet estimé de durée s'emmagasine ensuite en mémoire. Si cet estimé doit être utilisé immédiatement, il reste emmagasiné dans la mémoire fonctionnelle, alors que s'il doit être utilisé plus tard en tant que référence, il est transféré pour être emmagasiné dans la mémoire référentielle. Le mécanisme décisionnel se base sur une notion de comparaison des durées. Ce mécanisme compare la durée dans la mémoire fonctionnelle à celle dans la mémoire référentielle, et détermine si elles sont équivalentes ou différentes.



Par exemple, dans l'expérience de Roberts (1981), une récompense alimentaire était donnée après une réponse comportementale (appuyer sur un levier) d'un rat après une période de 20 s et ce à répétition. Lors de l'entraînement, le « pacemaker » émet à une fréquence donnée. Le stimulus externe est la disponibilité d'une nouvelle récompense alimentaire. Les pulsations du pacemaker sont accumulées jusqu'à la disponibilité de la récompense suivante. La quantité de pulsations dans l'accumulateur (durée de l'intervalle) est transférée dans la mémoire fonctionnelle, puis dans la mémoire référentielle au cours de l'entraînement. Par la suite, pour ajuster sa réponse dans le temps, le rat compare la quantité de pulsations accumulées à nouveau dans son accumulateur à celle dans sa mémoire référentielle à l'aide du mécanisme décisionnel. Au début de l'intervalle, la probabilité d'appuyer sur le levier est basse puisque les valeurs sont clairement distinctes. Plus la quantité de pulsations dans l'accumulateur s'approche de celle dans la mémoire référentielle, plus la probabilité que le rat appuie sur le levier est grande.

La mesure du temps peut être rétrospective ou prospective (Wearden & Penton-Voak 1995). La mesure rétrospective du temps concerne le passé proche et répond à des questions du type « Quelle était la durée de X? ». La mesure prospective du temps, quant à elle, concerne le présent comme par exemple « Faire l'action Y après 30 secondes ».

La mesure rétrospective du temps reposerait sur des mécanismes de perception du temps et de mémoire (Wearden & Penton-Voak 1995). Elle dépendrait aussi principalement sur la mémoire puisqu'elle fait appel directement à la mémoire référentielle du modèle « Scalar Expectancy Theory ».

La capacité de mesurer le temps a été démontré chez de nombreuses espèces de vertébrés (Lejeune & Wearden 1991, 2006; Clayton et al. 2009), mais les études chez les invertébrés sont rares. L'une de ces études chez un parasitoïde a été réalisée chez *Trichogramma minutum* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) (Schmidt & Smith 1987). Ce parasitoïde des œufs évalue la taille de la ressource, un œuf de *Manduca sexta* (Lepidoptera : Sphingidae) dans le cadre de cette expérience, en marchant sur l'hôte. Cette étude a démontré que *T. minutum* utilise la durée du transit initial sur son hôte, ici définie comme l'intervalle entre le premier contact avec l'hôte et le contact subséquent avec le substrat sur lequel est déposé l'hôte, pour évaluer le nombre de progénitures à y investir. Les guêpes utilisent ce mécanisme pour évaluer la taille d'un hôte : un transit de longue durée équivaut à un hôte

volumineux et vice-versa. Les auteurs, pour prouver qu'il s'agit bel et bien d'une mesure de durée, ont artificiellement raccourci le transit initial en bloquant les guêpes à l'aide d'une barrière en plastique enlevée par la suite. Les guêpes dont le transit initial est raccourci pondent moins d'œufs dans un hôte que les guêpes dont le transit initial n'a pas été affecté. Il est par contre impossible de dissocier l'effet du transit initial de durée réduite de celui de la barrière, uniquement présente chez les guêpes au transit raccourci. Si le transit initial pouvait être raccourci ou allongé sans effet confondant, cela permettrait de tester directement la perception du temps chez ces insectes.

Une autre étude a testé l'effet de la dépense énergétique sur la mesure rétrospective d'une durée chez le parasitoïde *Venturia canescens* (Hymenoptera : Ichneumonidae) (Liu et al. 2009). Cette étude a comparé la nécessité du vol et de la dépense énergétique associée à un temps d'attente comme mécanisme pour évaluer le coût d'un déplacement entre des agrégats d'hôtes. Deux populations de ce parasitoïde ont été comparées : une arrhénotoque et une thélytoque. Chez les arrhénotoques, les œufs non-fertilisés se développent en mâles alors que les œufs fertilisés se développent en femelles. Chez les thélytoques, les femelles se développent de façon parthénogénétique des oocytes non-fertilisés suite au retour à la diploïdie. Chez *V. canescens*, la thélytoquie a une base génétique et n'est pas associée à *Wolbachia* (Leach et al. 2009). Chez les arrhénotoques, le vol est associé au déplacement inter-agrégat, ce qui n'est pas le cas chez les thélytoques où les déplacements sont beaucoup plus courts. Pour les deux populations, l'effet du vol, et donc de la dépense énergétique qui y est associée, sur l'exploitation d'un agrégat d'hôte a été comparé à un temps d'attente. Liu et al. (2009) ont démontré que les guêpes thélytoques modulaient l'exploitation d'un agrégat simplement avec un temps d'attente sans que le vol ne soit nécessaire. Au contraire, chez les arrhénotoques, la guêpe devait avoir eu une expérience de vol pour modifier son exploitation d'agrégats, un simple temps d'attente n'étant pas suffisant. Puisque le temps de déplacement entre les agrégats détermine leur exploitation, ces résultats semblent indiquer une mesure du temps en partie liée à la dépense énergétique, du moins pour la population arrhénotoque. Ces différences seraient probablement liées à l'écologie de ces deux populations. La population arrhénotoque vit en milieu naturel : le vol est donc nécessairement lié à la découverte d'agrégats d'hôtes. La population thélytoque, quant à elle, se retrouve dans un habitat confiné

où les céréales ou les farines sont stockées : dans ce milieu artificiel, le vol est sûrement moins nécessaire à la découverte d'agrégats d'hôtes.

La mesure prospective du temps, quant à elle, reposerait plus sur la quantité d'activité cognitive pendant la période (Ornstein 1969), liée au nombre d'impulsions du pacemaker de la SET (Gibbon et al. 1984), plutôt que par un mécanisme de mesure de temps en soi. Dans ce cas-ci, il s'agit directement d'une comparaison de l'estimé de la mémoire fonctionnelle à celui de la mémoire référentielle. Ce type de mesure du temps est utilisé pour l'entraînement à intervalle fixe, puisque l'animal doit comparer la durée d'attente à celle de l'intervalle auquel il a été entraîné.

La mesure prospective a été testée chez de nombreuses espèces en utilisant l'entraînement à intervalle fixe (Richelle & Lejeune 1980, Gallistel 1990). Une méthodologie a été développée chez le geai *Aphelocoma californica* (Clayton & Dickinson 1998), basée sur le comportement naturel des geais qui cachent des ressources alimentaires afin de les exploiter plus tard. Dans l'expérience, deux types de ressources alimentaires ont été cachés par le geai : une ressource préférée mais qui pourrit avec le temps et une autre moins appréciée mais qui demeure saine. Les geais apprennent par la suite qu'après un court intervalle, la récompense demeure comestible alors qu'après un long intervalle, la récompense putrescible n'est plus comestible. Suite à un apprentissage sur la putrescibilité de la récompense préférée, les geais choisissent principalement la récompense alimentaire la moins préférée après un intervalle long et vice-versa pour un intervalle court. La même approche expérimentale a été utilisée chez les pies (Feeney et al. 2009) et les mésanges (Zinkivskay et al. 2009), ainsi que chez les rats dans un labyrinthe à huit bras (Babb & Crystal 2005) avec des résultats similaires. Toujours avec la même approche, des chercheurs ont démontré qu'un céphalopode, la seiche commune (*Sepia officinalis*), pouvait aussi mesurer le temps (Jozet-Alves et al. 2013).

À ce jour, peu d'études ont été réalisées sur la mesure prospective du temps chez les insectes. Tel que mentionné précédemment, les abeilles sont habiles pour synchroniser leur butinage à la présence d'une source alimentaire disponible sur une base régulière de 24 h (Frisch & Aschoff 1987). Par contre, lorsque l'on ne respecte pas le rythme circadien et que l'on utilise des intervalles de temps différents (19 h ou 27 h), les abeilles semblent incapables de synchroniser leur visite à la présence de la source alimentaire (Beling 1929). Une étude par Grossman (1973) n'a pas mesuré de phase d'extinction (diminution de la fréquence de

réponses) tout de suite après l'obtention de la récompense, ni d'augmentation de la fréquence de réponses juste avant l'obtention de la récompense, deux signes de la capacité de percevoir le temps. Il est important de noter que cette étude ne visait non pas à démontrer la perception du temps, mais l'effet et la persistance d'un entraînement à intervalle fixe, à ratio de réponse fixe et à réponses continues sur la capacité d'acquisition et d'extinction de l'apprentissage de l'abeille à miel. Selon cette méthodologie, seul l'entraînement à intervalle fixe permet de tirer des conclusions sur la perception du temps chez l'abeille. Dans cette expérience, l'abeille devait pénétrer dans un tube et, en y entrant, bloquait un rayon infra-rouge, processus nécessitant cinq secondes. Lorsque le rayon était bloqué, l'abeille recevait une récompense sucrée. Puis, lors des 90 secondes suivantes, interrompre à nouveau le rayon infra-rouge n'accordait pas de récompense. En observant les entrées de l'abeille dans le tube, la fréquence des interruptions du rayon est uniforme tout au long de l'intervalle, ce qui ne correspond pas au comportement d'un animal percevant le temps. En effet, on s'attend à ce qu'il y ait (i) une diminution de la fréquence des interruptions tout de suite après l'obtention de la récompense puisque la période d'attente vient tout juste de commencer (Lowe et al. 1979) et (ii) une augmentation de la fréquence des interruptions tout près de la fin de l'intervalle (Schneider 1969; Dews 1978). Des résultats similaires, toujours chez l'abeille, ont été obtenus plus récemment par l'équipe de Craig et al. (2014), où la fréquence des interruptions du rayon par l'abeille est uniforme tout au long de l'intervalle et ne démontre pas d'augmentation de fréquence lorsque la fin de l'intervalle approche, et ce pour une large gamme d'intervalles de temps (15, 30, 60 et 120 sec). L'incapacité de mesurer des intervalles de temps chez l'abeille est plutôt surprenante, surtout considérant la complexité temporelle du butinage qui comprend des intervalles courts entre les fleurs d'une même plante, des intervalles moyens entre différentes plantes et longs entre les sorties (Menzel et al. 1993; Menzel 1999). Richelle & Lejeune (1980) ont proposé que les abeilles utilisent le rythme circadien pour compenser leur incapacité à mesurer les intervalles de temps. Malgré qu'aucune preuve directe de la capacité des abeilles à mesurer des intervalles de temps soit disponible (Grossman 1973; Craig et al. 2014), il est impossible d'éliminer la possibilité que les abeilles n'ait juste pas la capacité d'apprendre aux intervalles de temps utilisés. Bien que possible, cela semble peu probable vu la capacité d'apprentissage des abeilles et le fait qu'elles ont des comportements qui peuvent être de durées très semblables à celles utilisées par Grossman (1973) et Craig et al. (2014).

Une autre étude utilisant des bourdons (*Bombus impatiens*) et un entraînement à intervalle fixe avec l'extension du proboscis pour une récompense alimentaire a démontré une perception du temps chez cet insecte (Boisvert & Sherry 2006). Les auteurs ont tout d'abord démontré que la fréquence des réponses diminue au début de l'intervalle d'attente et qu'elle augmente près de la fin de l'intervalle. Puis, ils ont comparé la réponse des bourdons entraînés uniquement à intervalles fixes longs à ceux entraînés avec des intervalles courts et longs dans un ordre aléatoire. Pour un intervalle de longue durée, les bourdons entraînés à intervalles mixtes répondent plus tôt que ceux entraînés à intervalle long uniquement. La différence de résultat entre les abeilles et les bourdons pourrait s'expliquer par l'utilisation de l'extension du proboscis qui permet l'obtention de fréquences de réponses plus élevées que l'entrée du corps dans un tuyau. De plus, dans l'étude de Craig et al. (2014), les six premiers renforcements lors de l'entraînement de l'abeille étaient attribués sans attente, une contrainte de leur méthodologie, ce qui peut avoir eu comme conséquence de diminuer l'efficacité de l'entraînement par la suite. Dans une étude subséquente, toujours sur les bourdons, les auteurs ont simulé une situation plus naturelle en utilisant des fleurs artificielles qui se remplissaient de nectar à différents intervalles (Boisvert et al. 2007). Suite à un entraînement, les bourdons revisitent les fleurs les plus riches alors qu'elles viennent de se remplir, démontrant encore une fois leur capacité à mesurer le temps.

## **2.2 Modulation de la perception du temps et température**

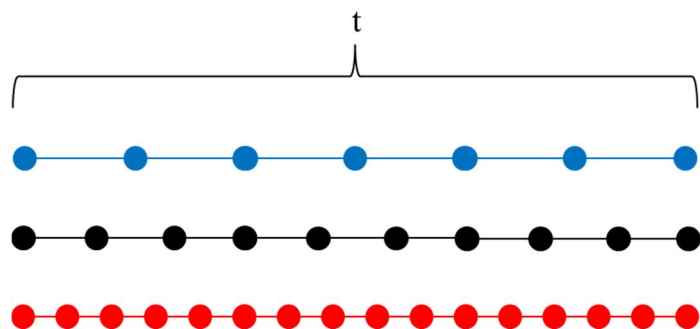
Tout comme une horloge, la perception du temps n'est pas parfaitement invariable. Par exemple, plusieurs études ont démontré que la perception du temps chez les humains et autres animaux peut être influencée par plusieurs facteurs : la diète chez le rat (pour une récompense de lécithine ou de protéines, la réponse était devancée; pour une récompense de glucides, la réponse était retardée; Meck & Church 1987a), un entraînement au « clicker » chez l'humain (le temps perçu pouvant être accéléré d'environ 10%; Penton-Voak et al. 1996), la durée de l'intervalle entre les tests (augmente la tendance à sous- ou sur-évaluer la durée d'un intervalle tout dépendant comment l'intervalle entre les tests est manipulé chez le pigeon; Spetch & Rusak 1989), le moment de la journée (le moment de la journée où le temps subjectif passe le plus rapidement est à 15 h 00 pour les gens actifs le jour, alors qu'il est le moment de la

journee où le temps subjectif passe le plus lentement chez les gens actifs de nuit; Thor 1962), le manque de nourriture (les pigeons nourris à 80% de leur régime habituel étaient plus précis pour estimer la durée d'un intervalle de courte durée (0.5 s) que ceux nourris à 100%; les pigeons nourris à 100% de leur régime habituel étaient plus précis pour estimer la durée d'un intervalle de longue durée (8 s) que ceux nourris à 80%; Zeiler 1991) et la drogue (la physostigmine fait répondre les rats prématurément, alors que l'atropine fait réagir les rats en retard; Meck & Church 1987b; la métanphétamine augmente la vitesse de l'horloge interne chez le rat; Maricq et al. 1981). Une revue de littérature a rapporté que la température a un effet sur la perception du temps chez les humains (Wearden & Penton-Voak 1995). Le temps subjectif est accéléré lorsque la température corporelle est augmentée alors qu'il est ralenti lorsque la température diminue. Cette thermosensibilité de la perception du temps chez les humains est d'autant plus surprenante puisqu'ils sont homéothermes et endothermes.

La température influence de nombreux aspects de la vie des animaux (Théorie métabolique de l'écologie; Brown et al. 2004), principalement chez les poïkilothermes (voir la revue par Angilletta et al. 2002). Certains processus biologiques sont influencés par la température (thermosensibles) alors que d'autres peuvent être compensés pour contrecarrer l'effet de la température et les rendre stables (thermorésistants). Ces deux phénomènes peuvent être présents chez un même individu selon la nature des processus biologiques. Par exemple, chez le lézard *Sceloporus undulatus*, la vitesse de marche est constante pour une certaine plage de températures et donc compensée (Angilletta et al. 2002). Par contre, pour la même plage de températures, la performance digestive varie et n'est donc pas compensée. Il est donc difficile de prédire comment la température influence un processus biologique avant d'en avoir mesuré directement l'influence. Le pacemaker utilisé pour mesurer le temps pourrait ainsi être influencé par la température avec la modification du métabolisme des poïkilothermes.

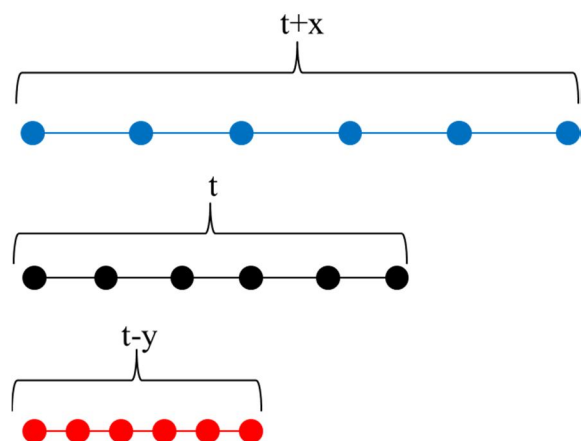
La thermosensibilité ou thermorésistance des processus neuronaux utilisés pour la perception du temps déterminerait si la température influence la perception du temps. Selon le modèle de la SET, le pacemaker est la partie principalement affectée par une modification de température. Ces résultats seraient expliqués par un pacemaker dont la fréquence d'impulsions augmente à haute température et diminue à basse température selon le modèle de la SET (Gibbon et al. 1984). Cette thermosensibilité aurait un impact différent selon le type de mesure

du temps. Dans le cas de la mesure rétrospective du temps, un intervalle de temps paraîtra plus long qu'il ne l'est en réalité puisque plus d'impulsions auront été produites par le pacemaker à haute température pendant cet intervalle, et vice-versa à basse température (Figure 2-2).



**Figure 2-2.** Nombre d'impulsions (cercles) à différentes températures pour une même durée d'intervalle lors d'une mesure rétrospective du temps.  $t$  = durée d'un intervalle de temps; bleu : température froide, noir : température moyenne; rouge : température chaude.

Dans le cas de la mesure prospective du temps, le temps semblera passer plus vite qu'il ne passe en réalité puisque le temps nécessaire pour obtenir le même nombre d'impulsions sera réduit grâce à la fréquence d'impulsions plus élevée du « pacemaker », et vice-versa à basse température (Figure 2-3). Wearden & Penton-Voak (1995) avancent tout de même que la mesure rétrospective d'une durée a un plus grand potentiel d'être influencée par la température que la mesure prospective puisque cette dernière repose plus sur l'intensité de l'activité cognitive (Ornstein 1969) associée au « pacemaker ».



**Figure 2-3.** Temps de réponse pour un même temps perçus (temps subjectif représenté par le même nombre d'impulsions) pour une mesure prospective du temps à différentes températures.  $t$  = temps avant la réponse comportementale à température moyenne; bleu : température froide, noir : température moyenne; rouge : température chaude;  $x$  et  $y$  = valeur indéterminées.

Peu d'études ont investigué l'effet de la température sur la perception du temps chez les poïkilothermes. La rythmicité circadienne de la luminescence du dinoflagellé *Gonyaulax polyedra* n'est pas influencée par la température (Hastings & Sweeney 1957). Les auteurs avancent qu'en situation naturelle, d'autres signaux externes pourraient expliquer la thermorésistance de ce comportement, tel le soleil ou des mécanismes internes comme des cycles enzymatiques générant des inhibiteurs pour ralentir les cycles directement associés à la perception du temps (Hastings & Sweeney 1957). Une autre étude utilisant un crabe violoniste, du genre *Uca*, a démontré que le rythme circadien pouvait être stoppé par une exposition à une basse température (près de 0°C), et que le cycle était décalé de la durée de l'exposition à la température froide (Brown & Webb 1948). Dans ce cas, la température semble en mesure de stopper l'horloge interne contrôlant le rythme circadien. À ma connaissance, une seule expérience a investigué l'impact de la température sur la mesure du temps, une mesure rétrospective, chez un insecte. Schmidt & Pak (1991) ont démontré, en utilisant le modèle *T. minutum* et la durée du transit initial sur l'hôte pour calculer son investissement, que la température n'affecte pas la mesure du temps; l'investissement est le même peu importe la température lors du transit initial. Ceci suggère que la température n'influence pas la perception du temps chez les insectes, mais une seule étude ne permet pas de généraliser ce résultat.

### 2.3 Écologie et perception du temps

Afin de maximiser leur valeur adaptative à vie, les organismes doivent optimiser leur comportement immédiat lors de la recherche et de l'exploitation de ressources (nourriture, proies, hôtes, etc.) (Mac Arthur & Pianka 1966). Pour prédire le comportement d'organismes dans l'exploitation de ressources, des modèles d'optimisation ont été développés. Le modèle de la quête optimale postule que les animaux maximisent leur taux de gain énergétique à long terme (Stephens & Krebs 1986). Comme le taux de gain se définit comme étant le gain par



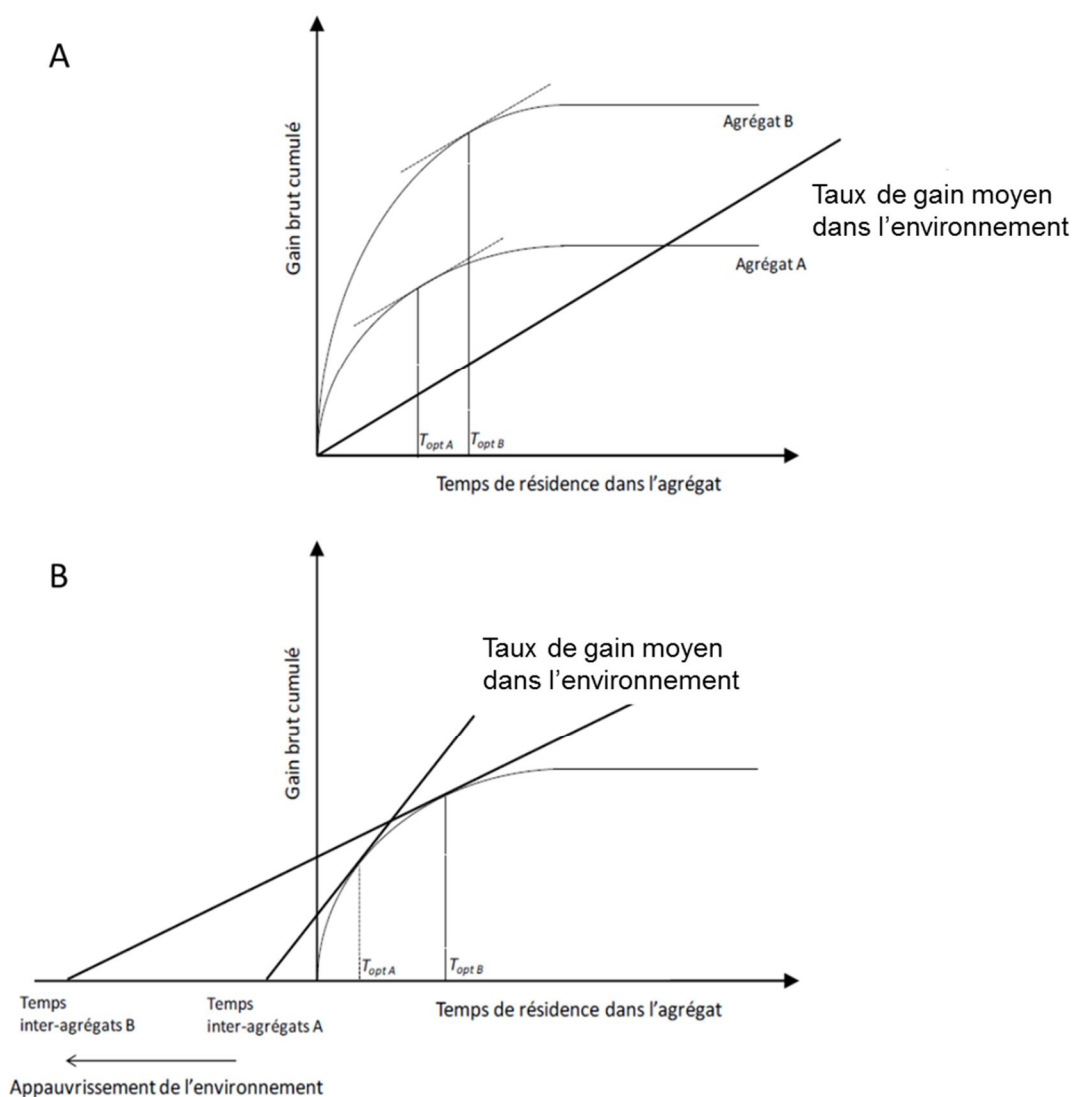
unité de temps, ce genre de modèle postule que les animaux peuvent mesurer le temps, bien que ce postulat n'a fait l'objet que de peu d'études chez un petit nombre d'espèces (Todd & Kacelnik 1993; Kacelnik & Brunner 2002).

Pour optimiser son comportement, un organisme doit prendre une série de décisions dans l'exploitation de ressources (voir Pyke et al. 1977) : 1) Quelles proies sélectionner? 2) Si la ressource est agrégée, quels agrégats visiter? 3) Quand quitter l'agrégat? 4) Comment explorer l'habitat entre deux agrégats? Pour ce faire, il doit être en mesure d'intégrer une multitude de signaux internes et externes, dont le temps. Les animaux doivent ajuster leur comportement selon la durée de certaines activités.

La sélection d'une proie peut être entre autre basée sur le temps de manipulation. Par exemple, *Aphidius colemani* (Hymenoptera : Braconidae) intègre le temps de manipulation de ses hôtes et maximise non pas le gain de valeur adaptative, mais bien le taux de gain de valeur adaptative (Barrette et al. 2009). En effet, les femelles pondent dans des pucerons de taille intermédiaire, soit un compromis entre les ressources disponibles et le temps de manipulation. La décision de quitter un agrégat est aussi basée sur le temps. Les modèles de la quête optimale postulent que les animaux maximisent leur taux de gain énergétique à long terme (Stephens & Krebs 1986). La capacité de mesurer des intervalles de temps serait donc essentielle puisque le calcul d'un taux nécessite un estimé du temps écoulé.

La décision de quitter un agrégat repose aussi sur une mesure du temps et est décrit par le théorème de la valeur marginale de Charnov (1976). Ce dernier se base sur un environnement où les ressources sont concentrées en agrégats distincts contenant des quantités variables. Lors de l'arrivée dans un agrégat, les organismes acquièrent des ressources à un taux dépendant de la densité des ressources dans l'agrégat. Au fur et à mesure que la ressource est exploitée, le taux d'acquisition de ressources (ressource acquise / temps) diminue puisque la ressource devient plus rare et s'épuise. Ce modèle prédit que les individus devraient exploiter un agrégat jusqu'au moment où le taux de gain de valeur adaptative de l'agrégat diminue sous le taux moyen de l'environnement. S'ils ne le font pas, ils gaspillent du temps, un facteur souvent limitant pour maximiser leur gain de valeur adaptative au cours de leur vie. Il devient alors plus rentable de quitter l'agrégat pour tenter d'en trouver un autre que de continuer à exploiter les ressources restantes. Les organismes exploitent donc les agrégats jusqu'à ce que le taux de gain dans l'agrégat soit égal au taux de gain moyen de

l'environnement. Le théorème de la valeur marginale a trois conséquences principales. Premièrement, les agrégats, peu importe leur qualité initiale, devraient être exploités puis quittés lorsque leur qualité est réduite au même niveau moyen de l'environnement (Figure 2-4 A). Deuxièmement, un agrégat de plus grande qualité devrait mener à un temps de résidence plus long qu'un agrégat de moindre qualité (Figure 2-4 A). Troisièmement, lorsque la durée de transport entre agrégat augmente, le temps de résidence devrait augmenter et vice-versa (Figure 2-4 B) (Kacelnik & Todd 1992). Le modèle postule donc que les animaux ont un mécanisme de perception de temps qui leur permet d'optimiser leur comportement, sans décrire le processus par lequel l'information sur le taux de gain devient disponible aux individus (Todd & Kacelnik 1993).



**Figure 2-4.** Représentation graphique du Théorème de la Valeur Marginale (Charnov 1976; Kacelnik & Todd 1992) (modifiée de Louâpre 2011). A : Le départ d'un agrégat survient lorsque le taux de gain instantané est égal au taux de gain moyen de l'environnement. B : Le temps de résidence optimal dans un agrégat ainsi que le taux de gain instantané au départ sont fonction du temps de déplacement entre les agrégats.

Les prédictions du théorème de la valeur marginale ont été testées chez de nombreux organismes. Parmi eux, les parasitoïdes occupent une place très importante : en effet, pour ces organismes, la quête de ressource est directement reliée à un gain de valeur adaptative. On peut donc imaginer que ces organismes ont subi des pressions de sélection très fortes pour optimiser leur comportement d'exploitation d'agrégats d'hôtes. Lors de l'exploitation d'hôtes par des parasitoïdes, il a été démontré que les guêpes *Trichogramma brassicae* restaient plus longtemps dans des agrégats de qualité élevée (Wajnberg et al. 2000). De plus, l'ensemble des agrégats ont été exploités au même niveau, comme le prédit le théorème. Les prédictions du modèle sont aussi applicables aux mâles: Martel et al. (2008) ont démontré que le temps de résidence de mâles *Trichogramma euproctidis* (anciennement *turkestanica*) (Hymenoptera : Trichogrammatidae) augmentait en fonction de la qualité de l'agrégat, ici le nombre de femelles émergeant sur le site d'émergence.

De nombreux facteurs influencent l'utilisation du temps par les parasitoïdes lors de l'exploitation d'un agrégat d'hôtes et peuvent venir influencer le temps de résidence (revue par Wajnberg 2006) : l'âge de la femelle, la quantité d'œufs disponibles, l'expérience préalable, la compétition, etc. La quête de ressources ne se fait pas dans un vacuum : un organisme doit intégrer plusieurs besoins et signaux à la fois et peut ainsi dévier des prédictions du théorème de la valeur marginale lorsque l'importance relative d'autres besoins augmente. Par exemple, la prédation peut influencer l'exploitation de ressources. Sans risque de prédation, le bourdon préfère exploiter des fleurs riches en nectar. En nature, des araignées sont souvent présentes aux abords des fleurs les plus riches, rendant la visite risquée (Jones & Dornhaus 2011). Les bourdons préfèrent donc exploiter à un niveau plus élevés les agrégats de fleurs plus pauvres pour éviter la prédation associée aux agrégats plus riches (Jones & Dornhaus 2011). De plus, lors de l'exploitation d'un agrégat, les organismes ne sont pas toujours actifs. Il peut arriver qu'ils s'arrêtent au cours de l'exploitation (Illius & Fryxell 2002). Ces pauses peuvent, entre autre, être associées à la détection de prédateurs. Une conséquence indirecte des arrêts lors de l'exploitation d'un agrégat est que le taux de gain

diminue : en effet, puisqu'il n'est plus en exploitation active, le temps de résidence augmente mais le gain n'augmente plus. Cet effet se produit normalement au fur et à mesure que la ressource est épuisée. Le temps passé à l'arrêt pourrait donc avoir un effet sur le taux de gain et donc sur le temps de résidence dans un agrégat.

## 2.4 Modèles biologiques

### *Guêpes parasitoïdes*

#### Trichogrammes

Les trichogrammes sont des guêpes parasitoïdes de la famille Trichogrammatidae, de la superfamille Chalcidoidea. Cette famille se divise en deux sous-familles (Trichogrammatinae et Oligositinae (Pinto 2006; Owen et al. 2007) et contient plus de 800 espèces, regroupés en 89 genres et 210 espèces de *Trichogramma*. On retrouve les trichogrammes dans l'ensemble des régions biogéographiques : Paléarctique, Orient, Néarctique, Néotropique, Afrotropical et Australasien (Pinto & Stouthamer 1994). On les retrouve dans les milieux terrestres, mais aussi aquatiques. Ce sont des guêpes parasitoïdes solitaires ou grégaires facultatifs d'œufs d'insectes de plusieurs ordres : Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hemiptera, Othoptera, Hymenoptera, Neuroptera, Thysanoptera et Odonata (Querino et al. 2010). Elles font majoritairement de la parthénogénèse arrhénotoque (œufs non-fécondés en mâles), bien que certaines espèces fassent de la parthénogénèse thélytoque (œufs non-fécondés en femelles). Dans cette thèse, trois espèces de Trichogrammes ont été utilisées : *Trichogramma euproctidis* Girault, *Trichogramma minutum* Riley et *Trichogramma pinto* Voegelé.

*Trichogramma euproctidis* (Figure 2-5) provient d'Eurasie. C'est un parasitoïde d'œufs de plusieurs espèces de lépidoptères (Quicke 1997; Polaszek 2010). Ces guêpes se retrouvent principalement en champs et en présence de plantes herbacées (Flanders 1937). En laboratoire, ce parasitoïde est principalement élevé dans des œufs d'*Ephestia kuehniella* (Lepidoptera : Pyralidae). Les femelles émergées de ces hôtes (25°C et photopériode de 16:8) vivent 84,7 heures et produisent 55,6 œufs (Boivin & Lagacé 1999). Les guêpes parasitoïdes de départ de l'élevage de cette espèce provenaient d'Égypte et l'élevage a été débuté en 1993.

*Trichogramma minutum* Riley, provenant d'Amérique du Nord, s'attaque aux œufs de plusieurs espèces de lépidoptères (Pinto & Oatman 1988). Ces guêpes se retrouvent

principalement en milieu forestier et parasitent principalement les hôtes présents sur les parties supérieures des arbres (Smith et al. 1990). Lorsqu'élevées dans des œufs d'*E. kuehniella* (25°C et photopériode de 16:8), les femelles vivent  $3,7 \pm 1,4$  jours sans nourriture, et produisent  $83,6 \pm 24,5$  œufs (Leatemala et al. 1995). Les individus de départ de l'élevage de cette espèce provenaient d'Ontario et l'élevage a été débuté en 1993.

*Trichogramma pinto* Voegelé se trouve en Amérique du Nord et dans la région Paléarctique où il parasite les œufs de plusieurs espèces de lépidoptères (Pinto & Oatman 1988). Cette guêpe parasitoïde est reconnue pour être très efficace dans le contrôle des ravageurs du coton (Silva & Stouthamer 1999). Élevées sur des œufs d'*E. kuehniella* (25°C et photopériode de 14:10), les femelles vivent 2,5 jours sans nourriture et 9,5 jours avec accès à la nourriture et produisent 38,6 œufs (Cabello & Vargas 1987). Les individus de départ de l'élevage de cette espèce provenaient de Chine et l'élevage a été débuté en 1993.



**Figure 2-5.** *Trichogramma euproctidis* parasitant un œuf de *Trichoplusia ni*. (Photo: J.-P. Parent)

*Microplitis croceipes* (Cresson) (Hymenoptera : Braconidae)

*Microplitis croceipes* se trouve dans les régions tempérées d'Amérique du Nord. C'est un parasitoïde solitaire de larves de lépidoptères (Noctuidae). Cette espèce est bénéfique dans les cultures de légumes et dans les pépinières (Lewis 1969). Cette guêpe parasitoïde a fait l'objet de nombreuses études sur l'apprentissage associatif, autant pour associer une odeur à la présence d'un hôte (Lewis & Tumlinson 1988, Takasu & Lewis 1993) qu'à une source

alimentaire (Takasu & Lewis 1996, Zhou et al. 2015). Les femelles peuvent aussi apprendre à éviter des odeurs lorsqu'une punition y est associée, par exemple la présence de maltose comparativement à d'autres sucres plus nourrissants (Makatiani et al. 2014). Les organismes de départ de l'élevage de cette espèce provenaient du « Crop Protection and Management Research Unit » (CPMRU), USDA, Tifton, GA, USA (Makatiani et al. 2013) et l'élevage a été débuté en 1995.

### *Hôtes*

#### *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera : Pyralidae)

La pyrale de la farine, un lépidoptère de la famille des Pyralidae, est un ravageur des grains emmagasinés et de plantes séchées (céréales et farines) (Richardson 1926). Ce papillon est fréquemment utilisés pour la production d'œufs dans l'élevage de masse de trichogrammes, principalement pour sa facilité d'élevage et sa résistance aux maladies (Richardson 1926; Consoli et al. 2010), et parce que les œufs d'*E. kuehniella* sont généralement acceptés (ils sont préférés à ceux de *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Plutellidae) (Tabone et al. 1999). Les œufs sont beiges, ronds et réticulés (Salt 1935), ils ont un volume de  $0.28 \text{ mm}^3$  (Bai et al. 1992) et permettent généralement le développement d'un parasitoïde solitaire, bien qu'exceptionnellement des jumeaux émergent.

#### *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera : Plutellidae)

La teigne des crucifères s'attaque à l'ensemble des crucifères, dont le chou-fleur, les choux et le colza (Biever & Boldt 1971). Les pertes économiques engendrés par ce ravageur sont importantes (perte annuelle entre 4 et 5 milliards USD; Furlong et al. 2013). Ses œufs sont blancs lorsque pondus, de forme ovale et de petite taille ( $0,13 \text{ mm}^3$ ) (Pak et al. 1986).

#### *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera : Noctuidae)

La fausse arpenreuse du chou s'attaque aux feuilles d'une multitude de plantes, autant cultivées que de mauvaises herbes à travers le monde, bien qu'on la retrouve principalement sur des crucifères (Shorey 1963). Leurs œufs sont de forte taille comparativement à ceux d'*E. kuehniella* et *P. xylostella* (volume œufs  $0.62 \text{ mm}^3$ ) et peuvent permettre le développement de quatre individus Trichogrammes (Boivin & Lagacé 1999; Godin & Boivin 2000).

*Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera : Sphingidae)

Le sphinx du tabac est un ravageur agricole de l'Amérique du Nord. Il se nourrit principalement de Solanaceae, dont le tabac, les tomates, les poivrons et les aubergines. Les œufs de *Manduca sexta* sont ronds, volumineux ( $1.77 \text{ mm}^3$ ) et de couleur verte et peuvent permettre le développement de plus de 30 œufs de *Trichogramma minutum* (Schmidt & Smith 1987).

*Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera : Noctuidae)

La noctuelle de la tomate est un ravageur agricole que l'on retrouve sur de nombreuses plantes cultivées. Plusieurs de ses caractéristiques biologiques en font un ravageur efficace : migration, forte fécondité, diapause facultative et polyphagie (Fitt et al. 1989). Les dommages causés par *H. armigera* dans le coton sont très importants à l'échelle mondiale (Zalucki et al. 1986; Fitt et al. 1989). Ce papillon peut être utilisé pour l'élevage de parasitoïdes de larves comme *M. croceipes* (Hoang & Takasu 2005). Le stade larvaire de ce lépidoptère dure environ 17 jours et est divisé en 6 stades (Nasreen & Mustafà 2000). Les organismes de départ de l'élevage de cette espèce provenaient de Sankei Chemical Company ltd, Kagoshima, Japon.

### **Chapitre 3: Contribution de l'auteur et des coauteurs**

L'idée d'étudier la perception du temps chez les parasitoïdes comme projet de doctorat a émergé suite aux premières rencontres avec mes codirecteurs, Guy Boivin d'Agriculture et Agroalimentaire Canada et Jacques Brodeur de l'Institut de Recherche en Biologie Végétale - Université de Montréal. Les nombreux échanges avec les membres des laboratoires Boivin et Brodeur ont enrichi ces projets de recherche.

Pour l'ensemble des chapitres de cette thèse, j'ai conçu et designé les expériences. J'ai réalisé l'ensemble des expériences dans les laboratoires du Centre de Recherche et Développement Saint-Jean-sur-Richelieu (Agriculture et Agroalimentaire Canada) ainsi qu'à l'Université Impériale de Kyushu (Fukuoka, Japon). Les directeurs de ces travaux de recherche, Guy Boivin et Jacques Brodeur, ont contribué au design expérimental et à la rédaction de l'ensemble des chapitres.

Le chapitre 4 est le résultat d'une collaboration établie avec le professeur Takasu (Université Impériale de Kyushu, Fukuoka, Japon) en 2014. Le professeur Takasu m'a fourni de précieux conseils pour améliorer mon design expérimental, ainsi qu'un accès à des infrastructures et au matériel biologique et un support technique. Il a également contribué à la révision du manuscrit.

Pour le chapitre 6, la mesure de la vitesse de marche n'était initialement qu'une étape préliminaire essentielle à l'expérience sur la mesure rétrospective du temps chez *T. euproctidis* (Chapitre 5). *Trichogramma euproctidis* utilise la durée du transit initial sur l'hôte pour mesurer sa taille. La vitesse de marche a un impact sur la durée du transit initial et donc sur la perception de la taille de l'hôte. La taille et/ou l'âge auraient pu, s'ils affectaient la vitesse de marche, être des facteurs confondants pour les résultats de l'étude sur la mesure rétrospective du temps du Chapitre 5. Suite à des discussions avec Jacques Brodeur et Guy Boivin, l'idée de rentabiliser les efforts et la technologie développée pour en faire un article a émergé. Ce chapitre a subi de nombreuses modifications pour finalement devenir une revue de littérature sur l'effet de la taille et de l'âge sur la vitesse de marche chez les insectes.

Je vais maintenant décrire la contribution de chacun des auteurs pour chacun des chapitres.



**Chapitre 4:** Parent, JP, Takasu, K, Brodeur, J, & Boivin, G. Time perception-based decision-making in a parasitoid wasp. Soumis dans: Behavioral Ecology.

J'ai conçu et réalisé les expériences, collecté et analysé les données et écrit le manuscrit. Keiji Takasu, Jacques Brodeur et Guy Boivin ont participé à l'élaboration du design expérimental ainsi qu'à la rédaction.

**Chapitre 5:** Parent, JP, Brodeur, J, & Boivin, G. Around the globe in a few seconds: use of time in a decision-making process by a parasitoid. Soumis dans: Ecological Entomology.

J'ai conçu et réalisé les expériences, collecté et analysé les données et écrit le manuscrit. Jacques Brodeur et Guy Boivin ont participé à l'élaboration du design expérimental ainsi qu'à la rédaction.

**Chapitre 6:** Parent, JP, Brodeur, J, & Boivin, G. Size and age as determinants of walking speed in insects. Soumis dans: Ecological Entomology.

J'ai conçu et réalisé les expériences, collecté et analysé les données et écrit le manuscrit. Jacques Brodeur et Guy Boivin ont participé à l'élaboration du design expérimental ainsi qu'à la rédaction.

**Chapitre 7:** Parent, JP, Brodeur, J, & Boivin, G. Thermal dilation of time: Impact of temperature on perceived travel duration in a parasitoid. Soumis dans: *Animal Behaviour*.

J'ai conçu et réalisé les expériences, collecté et analysé les données et écrit le manuscrit. Jacques Brodeur et Guy Boivin ont participé à l'élaboration du design expérimental ainsi qu'à la rédaction.

## **Chapitre 4: Time perception-based decision-making in a parasitoid wasp**

Jean-Philippe Parent, Keiji Takasu, Jacques Brodeur, and Guy Boivin

Soumis à Behavioral Ecology

#### 4.1 Abstract

The capacity of animals to measure time and adjust their behaviours accordingly has been a topic of interest in vertebrates, but little evidence is currently available for insects. This capacity has yet to be properly investigated in parasitoid wasps, even though they are frequently used to test ecological models. Here, using associative learning between odours and time intervals, we show that the parasitoid wasp *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) has the capacity to measure time. When released in a wind tunnel, females flew toward an odour associated with the time interval they had just experienced. We also found that reducing energy expenditure by restraining parasitoid wasp movement during the training interval prevented time perception. This serves as experimental evidence of time perception in a parasitoid wasp and provides a mechanism by which these animals could optimize their behaviours, as well as suggesting a role for energy expenditure in its time perception mechanism.

Key words: *Microplitis croceipes* – Measure of time– associative learning - parasitoid

## 4.2 Introduction

Animals need to adjust their behaviours to respond to the passage of time. Although the expression of several behaviours is modulated by time, the capacity of animals to perceive time and measure event duration remains a controversial issue (Roberts 2002; Zentall 2005). Optimal foraging models assume that animals use the rate of fitness gain to optimize several behaviours such as patch time and progeny allocation (Charnov 1976). This capacity to optimize their behaviour implies that some form of time measurement is being performed by the animals, although this assumption has rarely been tested. The capacity of animals to measure time and adjust their behaviours accordingly has been a topic of interest in vertebrates such as birds and mammals. Little evidence is currently available for insects, one of the most diverse and abundant taxonomic group of animals. In the handful of studies devoted to them, results regarding the capacity to perceive time differ depending on the species studied. *Bombus impatiens* synchronize proboscis extensions to a signal (a light turning on) based on elapsed time (Boisvert & Sherry 2006) and synchronise their visits to artificial flowers according to the interval of time required to refill nectar (Boisvert et al. 2007). No such pattern is observed for *Apis mellifera* when trained to enter a tube following a given interval (Grossman 1973) or to extend their proboscis to receive a reward based on elapsed time (Craig et al. 2014). With the exception of one exploratory study (Schmidt & Smith 1987), no studies tested time perception in parasitoid wasps, despite their importance as ecological models (Charnov 1976; Godfray 1994). In addition, the mechanism by which insects could measure time still remains to be determined. Liu et al. (2009) showed that parasitoid wasps can use energy expenditure when travelling between host patches to adjust their exploitation behaviour. Since the duration of travel between hosts patches influences host exploitation by parasitoid wasps (Charnov 1976), energy expenditure could therefore be a proxy for time measurement.

*Microplitis croceipes* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid wasp of Lepidoptera larvae, is commonly used as a model organism for associative learning studies using host (Lewis & Tumlinson 1988; Turlings et al. 1993) and food rewards (Takasu & Lewis 1996; Wäckers et al. 2002; Wäckers et al. 2006; Ngumbi et al. 2012; Zhou et al. 2014). We exploited this capacity for associative learning to test whether *M. croceipes* females can

learn to associate an odour to either a short or a long interval of time between host encounters and therefore measure time.

### 4.3 Materials and Methods

All experiments were conducted at Agri-Bio Research Laboratory, Kyushu University, Fukuoka, Japan.

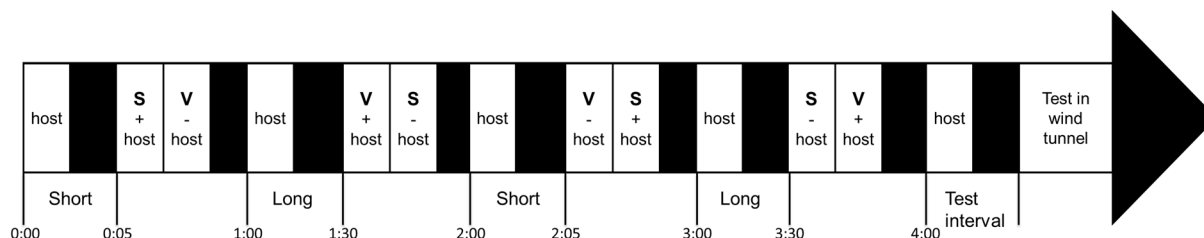
#### *Organisms*

*Microplitis croceipes* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) (originally from USDA-ARS Insect Biology and Population Management Research Laboratory (Tifton, Georgia)) were reared in plastic cages with honey and water available *ad libitum*, under a constant temperature (25°C) and a photoperiod of 16:8 (L/D). *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) larvae were used as hosts. Two day-old ( $54 \pm 6$  h) mated females fed honey water were isolated in vials prior to training.

#### *Training*

The objective of the training procedure was for parasitoid female wasps to associate time intervals between hosts (larvae of *H. armigera*) (rewards) with either a strawberry or a vanilla odour. The training methodology is similar to those described by Schurmann et al. (2009) and Hoedjes et al. (2012). Each parasitoid wasp underwent four training sessions. They were isolated in a glass tube (55 mm x 10 mm), plugged with a cotton ball, and were free to move around the tube for the duration of two different intervals: a short interval (5 min) and a long interval (30 min). These intervals were selected in order to (i) allocate enough time for manipulations of multiple parasitoid wasps simultaneously, (ii) test parasitoid wasps during the circadian peak activity period and (iii) maximise the time difference between the two durations. Figure 4-1 shows an example of a training regime, where the 5 min interval and the 30 min interval are associated with the odour of strawberry and vanilla, respectively. The parasitoid wasp was offered a host with an odour following each interval to establish the association. To dissociate an interval from the alternative odour, the parasitoid wasp was next exposed to the alternative odour without a host. For the first two intervals, the parasitoid

wasps were exposed to an odour with a host, immediately followed by the alternative odour without the presence of a host. The order was reversed for the last two intervals to ensure that the association was between the odour and the interval duration and not with the first odour encountered. If female parasitoid wasps are able to measure interval durations, they should learn to associate the odour to the time interval.



**Figure 4-1.** Example of a training timeline of *Microplitis croceipes* for association between a short interval and the odour of strawberry and a long interval with the vanilla odour. **V** = vanilla odour; **S** = strawberry odour. Short interval = 5 min, Long interval = 30 min. Sections in black represent periods where the parasitoid wasp is isolated in a tube. “Odour + host” means that a host is present with the odour, while “Odour - host” means that no host is present with the odour. Host frass is included in all steps, except when parasitoid wasps are tested in the wind tunnel.

All host encounters occurred in a Petri dish (diameter 40 mm) with a piece of filter paper (3.75 cm<sup>2</sup>), covered with 3.0 mg of host frass containing a kairomone used to facilitate host location. One microliter of either vanilla extract (43 % ethanol; Meijiya Co., Japan) or strawberry flavour (43 % ethanol; Crown Foods Co., Japan) were applied to a filter paper disc (Whatman No. 1) and left for 30 minutes to allow the alcohol solvent to evaporate. Training methods were balanced with respect to odour – interval duration associations, as well as for interval duration order. Training was conducted at room temperature (24-25°C).

#### *Odour association tests in wind tunnel*

Testing was performed in a wind tunnel similar to that described by Drost et al. (1988) (50 cm wide, 50 cm high and 120 cm long). Wind speed was 0.3 m/s and illumination was 1600 lux. Following training, after a short or long test interval, parasitoid wasps were individually released in the wind tunnel 60 cm downwind of two odour sources (5 µl of strawberry or vanilla essence on filter paper rectangles; 2.5 x 1.5 cm) separated by 15 cm. The test ended with either a choice (landing on an odour source), after four false landings (landing on

anything else but an odour source) or when five minutes in the wind tunnel had elapsed without a choice. If female parasitoid wasps are able to measure interval durations, they should choose the odour associated with the test interval (odour of the short interval if the test interval was short, and vice-versa).

### *Energy Expenditure*

We conducted a second experiment to determine whether energy expenditure resulting from movement could be used by the female parasitoid wasp as a proxy for time perception. Female parasitoid wasps were reared and handled as described above. Using a protocol similar to the first experiment, associative learning was used to compare responses of parasitoid wasps that were either (i) *Free* = parasitoid wasps isolated in a vial (55 mm x 10 mm) and moving freely (N = 24) (as in the first experiment) or (ii) *Restrained* = parasitoid wasps isolated in a vial but restrained in their movement by a cotton ball (N = 24). The females were restrained only between the training intervals, as these were the intervals that the parasitoids had to perceive in order to make the association. Female parasitoid wasps were tested in a wind tunnel as described above. If time perception is associated with a decrease in energy reserves, only females from the *Free* treatment should be able to discriminate between odours associated with short and long interval durations.

### *Statistical analysis*

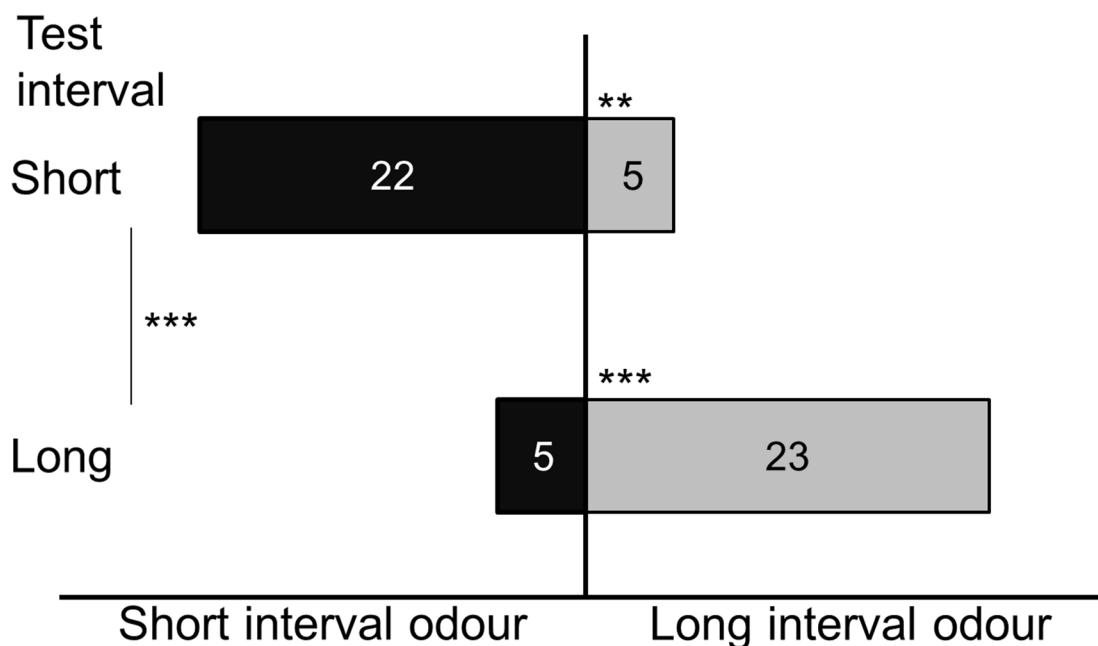
Fisher Exact tests were used to test for differences between treatments: short vs. long intervals and *Free* vs. *Restrained* parasitoid wasps. Differences between odour choices for a given test interval, between parasitoid wasps that did not make a choice, between positions of the odours in the wind tunnel, between odour types, between training-test order and between choice for the odour associated or not with the test interval for an energy expenditure treatment were tested with Chi-Square tests. All analyses were performed using R (version 3.2.0).

## **4.4 Results**

The parasitoid wasps showed a clear preference for the odour associated with the short interval when they had experienced a short test interval, and vice-versa for the long test interval

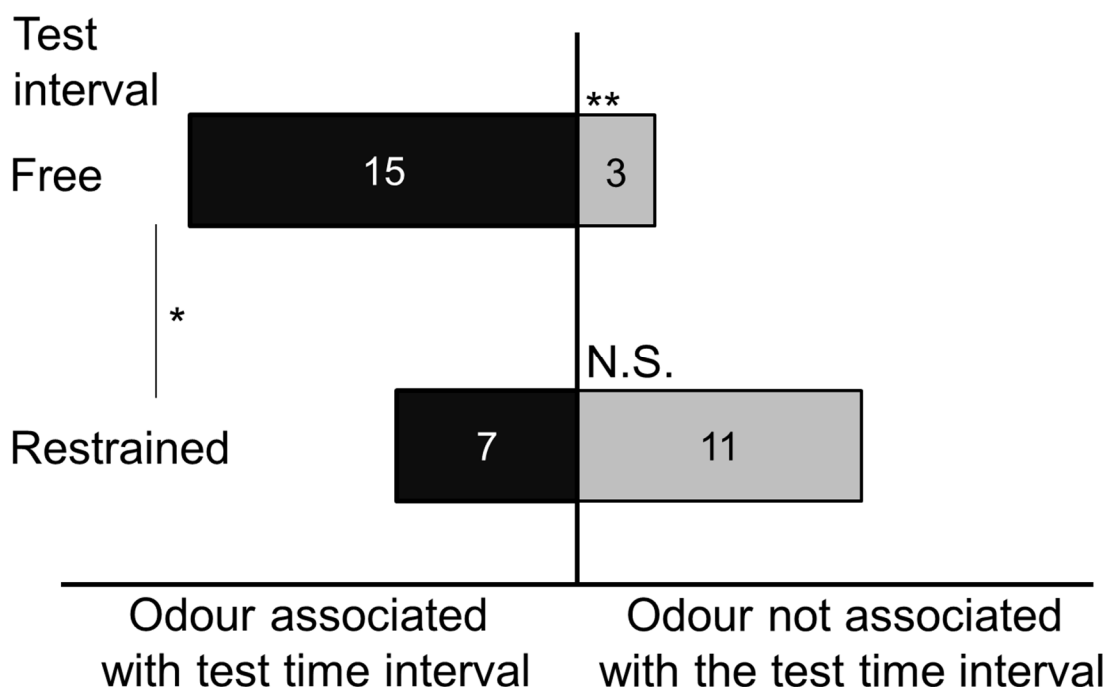


(Figure 4-2). There were no biases associated with the side of the wind tunnel (left or right):  $\chi^2 = 0.416$ ;  $P = 0.303$ ); the odour (vanilla or strawberry:  $\chi^2 = 1.489$ ;  $P = 0.726$ ); or the training-test order: ( $\chi^2 = 4.455$ ;  $P = 0.082$ ). The number of parasitoid wasps that did not make a choice was also similar between test intervals (Short: 12 out of 39; Long: 10 out of 38;  $\chi^2 = 0.0325$ ;  $P = 0.857$ ).



**Figure 4-2.** Number of *Microplitis croceipes* parasitoid wasps responding to odours associated to a short (5 min) or a long (30 min) interval of time between *Helicoverpa armigera* larvae encounters, depending on the test interval duration (Short: n=39; Long: n=38). The difference between short and long test intervals was compared with a Fisher Exact Test. Differences between the odours associated with a short or long interval for the same test interval duration were tested with a  $\chi^2$  test. \*\* =  $P < 0.01$ ; \*\*\* =  $P < 0.001$ .

Parasitoid wasps in the *Free* treatment behaved similarly to the parasitoid wasps from the first experiment. They preferentially flew towards the odour associated with the test interval duration they had just experienced (Figure 4-3;  $\chi^2 = 8.000$ ;  $P = 0.005$ ), whereas *Restrained* parasitoid wasps did not show a preference between the two odours ( $\chi^2 = 0.889$ ;  $P = 0.346$ ). The number of parasitoid wasps that did not make a choice did not differ between treatments (*Free*: 6 out of 24; *Restrained*: 6 out of 24;  $\chi^2 = 0$ ;  $P = 1$ ), these proportions being similar to the ones observed in the previous experiment.



**Figure 4-3.** Response of *Free* or *Restrained* females *Microplitis croceipes* to odours associated with the test interval or the odours not associated with the test. *Free* females were isolated in a vial where they can move (n=24), while *Restrained* females were isolated in a vial where movement was impeded by a cotton ball (n=24). The response to odour of *Free* and *Restrained* parasitoid wasps was tested with a Fisher Exact Test. The responses to odours associated or not with the test interval were tested with a  $\chi^2$  test. N.S. =  $P > 0.05$ ; \* =  $P < 0.05$ ; \*\* =  $P < 0.01$ . For details on test intervals and odours, see legend of Figure 1.

#### 4.5 Discussion

Our results demonstrate that *M. croceipes* can perceive and utilize time in a decision-making process. These parasitoid wasps have the capacity to associate odours with the abstract concept of time interval duration. They can compare the time interval they experienced just prior to being released in the wind tunnel to the interval durations they had previously learned, and then chose to land on the odour source associated with the proper duration. This ability to discriminate odours associated with interval durations confirms the capacity of parasitoid wasps to measure time.

Furthermore, *Restrained* parasitoid wasps were unable to discriminate between the two time intervals associated with different odours, suggesting the use of energy expenditure as a proxy for time measurement. Our methodology simulated travel intervals between hosts

during which energy expenditure could be used as a proxy to measure travel time, since energy expenditure and movement are inextricably linked in nature. Energy expenditure during inter-patch intervals has already been shown to be required to adjust patch exploitation in another parasitoid wasp *Venturia canescens* (Liu et al. 2009). One way to confirm the role of energy expenditure for time perception would be to measure actual energy expenditure in a metabolic chamber during the waiting intervals, while free or restrained. Future studies could also measure movement of the parasitoid wasp with video tracking software to disentangle energy expenditure from movement.

Previous studies of insect time perception in bumble bees and honey bees have mainly focused on associate learning with proboscis extensions (Boisvert & Sherry 2006; Craig et al. 2014). Our methodology, inspired by Clayton & Dickinson (1998), was applied to an insect system for the first time. One major difference between our methodology and previous ones is that we used an oviposition reward instead of a nutritional reward. We believe that since oviposition in parasitoid wasps is directly linked to fitness, the training for something as abstract as intervals of time had higher probabilities of being successful than by using a less essential ecologically important reward, such as food.

Our study provides the first clear evidence of the capacity to measure time in parasitoid wasps. Although it is impossible to determine for what function time perception was initially selected, parasitoid wasps could use it in diverse situations. This capacity could explain, for example, how parasitoid wasps adjust patch residence time with travel duration between patches. Similarly, it could provide a mechanistic basis for their decision to leave a patch using the rate of fitness gain (fitness gain per unit of time) during patch exploitation. Both these measures of time are essential assumptions of the Marginal Value Theorem (Charnov 1976; Todd & Kacelnik 1993; Adler & Kotar 1999), an optimality model widely used to describe the mechanisms through which parasitoids maximize their lifetime offspring production. For 50 years, time perception has remained an untested assumption of several ecological optimality models in invertebrates (Charnov 1976; Waage & Ming 1984), but we now have strong evidence of their capacity to adjust behaviours by measuring durations.

#### **4.6 Acknowledgements**

We thank K. Hayashi and K. Urakawa for insect rearing. We thank S.-I. Takano for technical assistance. This research was supported by a scholarship from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, as well as the Jacques-Rousseau travel scholarship from the Institut de Recherche en Biologie Végétale – Université de Montréal.

#### 4.7 References

- Adler, F.R. and Kotar, M. 1999. Departure time versus departure rate: how to forage optimally when you are stupid. *Evolutionary Ecology Research*, 1: 411-421.
- Boisvert, M.J. and Sherry, D.F. 2006. Interval timing by an invertebrate, the Bumble Bee *Bombus impatiens*. *Current Biology*, 16: 1636-1640.
- Boisvert, M.J., Veal, A.J. and Sherry, D.F. 2007. Floral reward production is timed by an insect pollinator. *Proceedings: Biological Sciences*, 274: 1831-1837.
- Charnov, E.L. 1976. Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, 9: 129-136.
- Clayton, N.S. and Dickinson, A. 1998. Episodic-like memory during cache recovery by scrub-jays. *Nature*, 395: 272-274.
- Craig, D.P.A., Vamon, C.A., Sokolowski, M.B.C., Wells, H. and Abramson, C.I. 2014. An assessment of fixed interval timing in free-flying honey bees (*Apis mellifera ligustica*): an analysis of individual performance. *PLoS ONE*, 9: 1-14.
- Drost, Y.C., Lewis, W.J. and Tumlinson, J.H. 1988. Beneficial arthropod behavior mediated by airborne semiochemicals. V. Influence of rearing method, host-plant, and adult experience on host-searching behavior of *Microplitis croceipes* (Cresson), a larval parasitoid of *Heliothis*. *Journal of Chemical Ecology*, 14: 1607-1616.
- Godfray, H.J.C. 1994. *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, UK.
- Grossman, K.E. 1973. Continuous, fixed-ratio, and fixed-interval reinforcement in honey bees. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 20: 105-109.
- Hoedjes, K.M., Seidle, J.L.M., Werren, J.H., Vet, L.E.M. and Smid, H.M. 2012. High-throughput olfactory conditioning and memory retention test show variation in *Nasonia* parasitic wasps. *Genes, Brain and Behavior*, 11: 979-997.
- Lewis, W.J. and Tumlinson, J.H. 1988. Host detection by chemically mediated associative learning in a parasitic wasp. *Nature*, 331: 257-259.
- Liu, Y.-Q., Bernstein, C. and Thiel, A. 2009. Travel duration, energetic expenditure, and patch exploitation in the parasitic wasp *Venturia canescens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63: 1459-1469.

- Ngumbi, E., Jordan, M. and Fadamiro, H. 2012. Comparison of associative learning of host-related plant volatiles in two parasitoids with different degrees of host specificity, *Cotesia marginiventris* and *Microplitis croceipes*. *Chemoecology*, 22: 207-215.
- Roberts, W.A. 2002. Are animals stuck in time? *Psychological Bulletin*, 128: 473-489.
- Schmidt, J.M. and Smith, J.J.B. 1987. Short interval time measurement by a parasitoid wasp. *Science*, 237: 903-905.
- Schurmann, D. Collatz, J., Hagenbucher, S., Ruther, J. and Steidle, J. 2009. Olfactory host finding, intermediate memory and its potential ecological adaptation in *Nasonia vitripennis*. *Naturwissenschaften*, 96: 383-391.
- Takasu, K. and Lewis, W.J. 1996. The role of learning in adult food location by the larval parasitoid, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, 9: 265-281.
- Todd, I.A. and Kacelnik, A. 1993. Psychological mechanisms and the marginal value theorem: dynamics of scalar memory of travel time. *Animal Behaviour*, 46: 765-775.
- Turlings, T.C.J., Wäckers, F.L., Vet, L.E.M., Lewis, W.J. and Tumlinson, J.H. 1993. Learning of host-finding cues by hymenopterous parasitoids. In: *Insect Learning: Ecology and Evolutionary Perspectives*, Eds: Papaj, D.R. & Lewis, A.C. Chapman & Hall, New York, NY, USA, pp. 51-78.
- Waage, J.K. and Ming, N.S. 1984. The reproductive strategy of a parasitic wasp: I. Optimal progeny allocation in *Trichogramma evanescens*. *Journal of Animal Ecology*, 53: 401-415.
- Wäckers, F.L., Bonifray, C. and Lewis, W.J. 2002. Conditioning of appetitive behavior in the Hymenopteran parasitoid *Microplitis croceipes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103: 135-138.
- Wäckers, F.L., Bonifray, C., Vet, L.E.M. and Lewis, W.J. 2006. Gustatory response and appetitive learning in *Microplitis croceipes* in relation to sugar type and concentration. *Animal Biology*, 56: 193-203.
- Zentall, T.R. 2005. Animals may not be stuck in time. *Learning and Motivation*, 36: 208-225.
- Zhou, Z., Samarasinghe, D., Rains, S. and Olson, D.M. 2014. Computational modeling and experimental validation of odor detection behaviors of classically conditioned parasitic wasp, *Microplitis croceipes*. *Biotechnology Progress*, 31: 596-606.







**Chapitre 5: Around the globe in a few seconds: use of time perception in a decision-making process by a parasitoid**

Jean-Philippe Parent, Jacques Brodeur and Guy Boivin

Soumis à Ecological Entomology

## 5.1 Abstract

Time perception is seldom studied in invertebrates, with the limited available experimental evidence being insufficient to provide a comprehensive pattern of the capacity of invertebrates to measure time and use it in decision-making processes. We hypothesized that insect parasitoids have the capacity to perceive time and use it to optimize foraging decisions related to host patch exploitation. To examine time perception in females of the gregarious egg parasitoid *Trichogramma euproctidis*, we used their ability to adjust their investment (number of eggs laid) in a host in accordance with the initial transit duration (interval between the first contact with the host and the following contact with the substrate). Females utilize this method to assess host egg size, since a large egg necessarily requires more time to evaluate than a small one. We artificially extended the initial transit duration for eggs of a given size by suspending them above a surface. For similar sized hosts, females *T. euproctidis* increased both oviposition duration and progeny allocation following a longer initial transit duration. These results demonstrate the intrinsic capacity of this parasitoid to measure time, and to adjust its progeny investment accordingly. To our knowledge, this is the first demonstration of a retrospective measure of time in an invertebrate.

Key words: *Trichogramma euproctidis* – retrospective time – measure of time

## 5.2 Introduction

Optimal foraging theory predicts that animals should optimize their behaviours to maximize their lifetime fitness (Charnov & Skinner 1984; Stephens & Krebs 1986). Several optimality models have been proposed to describe and predict animal behaviour, including the Marginal Value Theorem that is concerned with how animals should optimize the exploitation of a resource in a patchy environment (Charnov 1976). Animals are expected to exploit patches for a longer period of time when they are of higher quality, or when travelling from one patch to another incurs high costs (e.g. a long travel duration; Boivin et al. 2004; Thiel & Hoffmeister 2004). Once in a patch, animals are expected to exploit resources until reaching an instantaneous rate of fitness gain that is determined by patch richness and travel costs (Charnov 1976). This model assumes that animals can measure a rate of gain. Thus, a basic but untested assumption is that animals have the capacity to perceive time and use this information in decision-making processes (Todd & Kacelnik 1993).

One of the most studied models of time perception, the Scalar Timing Model (Gibbon 1977) identifies three components required to measure time: a pacemaker, a memory that can store information from the pacemaker, and a decision mechanism to compare number of pulses; or in other terms, the duration. The measure of time by animals can be prospective (i.e., knowing how long a process has been ongoing), or retrospective (i.e., estimating the duration of a past event) (Wearden & Penton-Voak 1995).

In invertebrates, very few studies have investigated time perception. Bumblebees were shown to perceive time prospectively, both in conditioning training under laboratory conditions (Boisvert & Sherry 2006) and by using artificial flowers (Boisvert et al. 2007). Recently, the parasitoid *Microplitis croceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) was shown to be able to differentiate time intervals following associative learning, using a prospective measure of time (Parent et al. in review). In contrast, time perception was not reported for honey bees (Grossman 1973; Craig et al. 2014), an unexpected result given the complex behaviours exhibited by honey bees when locating and exploiting resources in the habitat (Wells & Wells 1983).

The ability to measure time has also been suggested in *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a small, facultatively gregarious parasitoid of

Lepidoptera eggs that can adjust progeny allocation in relation to host size (i.e., the quantity of available resources) (Schmidt & Smith 1987). *Trichogramma* wasps typically adjust clutch size with the size of the host, laying more eggs into large hosts than in small hosts (Salt 1934, 1936; Klomp & Teerink 1967; Bai et al. 1992; Godfray 1994). A number of studies have examined how *Trichogramma* wasps evaluate host size, discarding some potential mechanisms such as counting the number of steps (Schmidt & Smith 1987, 1989) and relying on visual cues (Schmidt & Smith 1985). *Trichogramma minutum* was shown to use the initial transit duration, i.e. the interval between the first contact with a host egg and the subsequent contact with the substrate, to evaluate the quality (size) of a host and allocate an optimal number of progeny. The duration of the initial transit becomes an indication of host size, since a larger host requires a longer initial transit duration than a smaller host. However, the methodology used by Schmidt & Smith (1987) may have caused an experimental bias (see Material and Methods below).

The objective of this study was to investigate time perception in the egg parasitoid *Trichogramma euproctidis* (Girault) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) using the initial transit duration as a mean of evaluating the quality of the host. If *T. euproctidis* has the capacity to measure time (retrospectively) and therefore perceives time, the number of eggs laid per host should increase, independently of host size, with the duration of the initial transit. Behaviours associated with oviposition, such as egg laying duration, should increase, unlike other behaviours associated with egg manipulation, such as the duration of host evaluation, host feeding and drilling, who should remain stable.

### 5.3 Materials and Methods

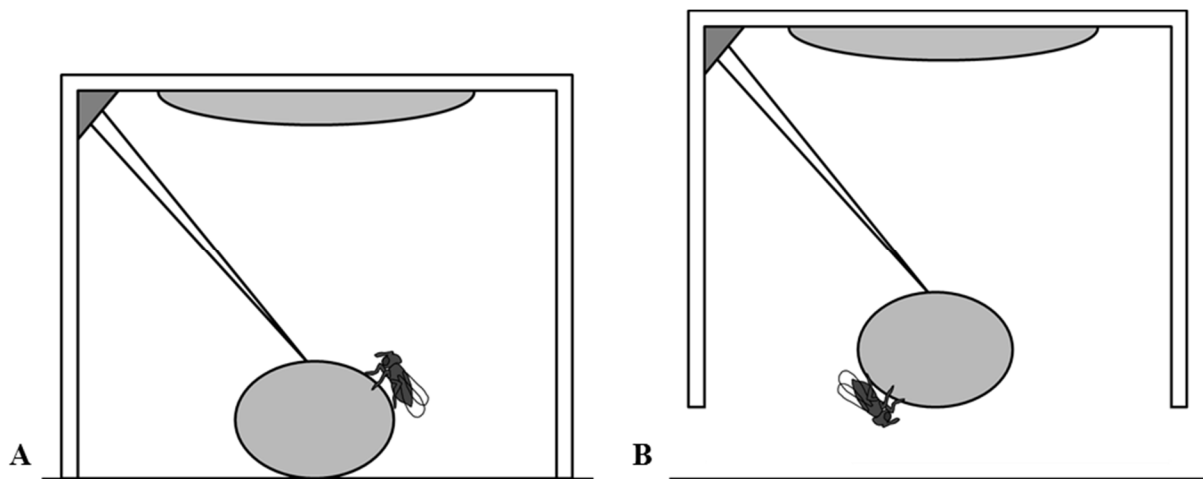
#### *Insects*

Female *T. euproctidis* were reared on *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) eggs (egg diameter 0.5 mm) at  $25 \pm 1$  °C,  $50 \pm 5$  % RH and LD 16:8 h, unless otherwise stated. For all experiments, females were  $16 \pm 12$  h old after emergence, unfed, naïve and unmated. Two host species of different sizes were used for different experiments. *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae) eggs (diameter: 1.5 mm) were used in the progeny investment experiment. *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs (diameter: 0.6 mm) were

used for behavioural observations during host egg evaluation and exploitation. All host eggs were fresh and laid  $16 \pm 12$  h ago.

*Egg suspension to manipulate initial transit duration*

Schmidt & Smith (1987) shortened the initial transit duration of *Trichogramma minutum* using a plastic barrier, which may have caused an experimental bias because the consequence of the shorter transit duration could not be disentangled from a potential disturbing effect of the barrier on the female's behaviour. We manipulated the initial transit duration by gluing a host egg to a fine glass needle (diameter  $< 0.1$  mm) that was itself glued to a camera (Dino-lite-Pro AM413ZT, x60) using reusable adhesive putty Tak-Fun (Henkel, ON, Canada) (Figure 5-1). The arena walls (diameter 20 mm, height 20 mm) formed by the tip of the camera were covered with Fluon® to prevent the wasp from climbing and allowed continuous recording of wasp behaviours on the egg. The experiment started by releasing the wasp on a filter paper (Whatman No.1). The camera-needle-egg was next lowered, allowing the wasp to climb on the egg and preventing it from escaping. When the wasp climbed on the egg, the camera-needle-egg was lifted from the substrate without disturbance. The female was free to continue its uninterrupted initial transit until the egg was lowered back to the substrate. Egg suspension duration was partly determined by the wasp's position on the egg: it could not be lowered when the wasp was on the lower half. The glass needle did not seem to affect wasps' behaviours and was present for all treatments.



**Figure 5-1.** Experimental setup for host suspension. The egg (*Manduca sexta* or *Trichoplusia ni*) is glued to the tip of a glass needle, which is fixed to the inside of a camera (lens is seen on

top). Once *Trichogramma euproctidis* is on the host (A), during the initial transit, the camera is lifted from the ground together with the egg (B). The wasp can then walk freely all around the host until the camera is lowered back to the initial position.

### *Progeny investment*

In order to examine the relationship between progeny investment and the initial transit duration on the host, the number of *T. euproctidis* larvae present in *M. sexta* eggs was measured following three initial transit durations of  $13.5 \pm 1.9$  s,  $30.6 \pm 1.2$  s and  $43.8 \pm 1.3$  s for short, intermediate and long transit, respectively. Variations in initial transit durations within treatments correspond to interindividual differences in time required by the wasps to encounter the substrate while walking on the host following the end of the suspension. This method resulted in non-overlapping clusters of data across treatment. The test ended when the parasitoid wasp stepped off the host. Between the end of the initial transit duration and stepping off the host, the female wasp was not limited in the number of oviposition events. Progeny investment was estimated by dissecting the host two days after oviposition to count the number of parasitoid larvae (Schmidt & Smith 1987). Although this procedure may have underestimated the female's investment because of immature mortality between oviposition and dissection of the host, finding larvae is more reliable than finding eggs for *Trichogramma* species (Schmidt & Smith 1987).

### *Behaviours*

The duration of several behaviours associated with host evaluation and exploitation were measured: host evaluation duration (total time spent moving antennae upward and downward repeatedly on the host), host drilling duration (total time spent drilling with the ovipositor), egg laying duration (total time spent with the ovipositor inserted in the host) and host feeding duration (total time spent feeding on the host) (Nurindah et al. 1999). *Trichoplusia ni* eggs were used as their small size allowed all parasitoid behaviours to be recorded and measured; *M. sexta* eggs were too large to observe the behaviours of females when on the bottom half of the egg. The same egg suspension method was used as for the progeny investment experiment (Fig. 1), but durations differed. Three suspension treatments were used: no suspension (negative control), short suspension ( $1.8 \pm 0.4$  s; positive control to isolate the effect of suspension itself without affecting the initial transit duration) and long suspension ( $18.3 \pm 0.8$

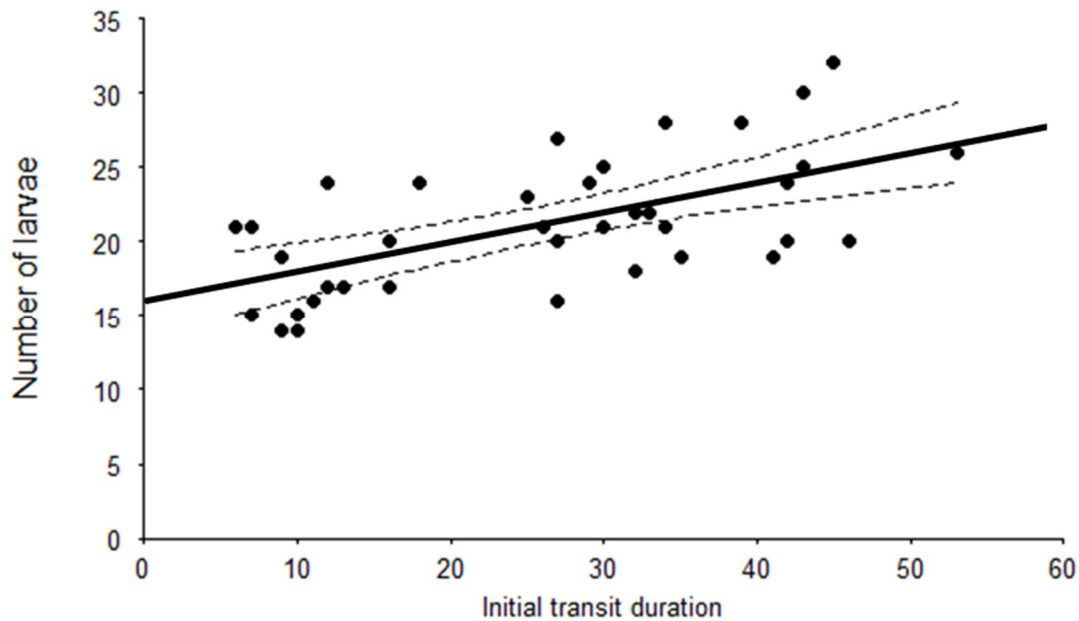
s). The three suspension treatments resulted in initial transit durations of  $4.4 \pm 0.7$  s for no suspension ( $n = 7$ ),  $4.6 \pm 0.7$  s for short suspension ( $n = 13$ ) and  $21.3 \pm 0.9$  s for long suspension ( $n = 15$ ).

#### *Statistical analyses*

A linear regression was used to measure the relation between the initial transit duration and the number of larvae per host. Differences in behaviour durations between suspension treatments were tested with Kruskal-Wallis tests, as the data distribution was not normal. For multiple comparisons between means, Wilcoxon tests with Bonferroni corrections were used. All analyses were conducted using R (version 3.2.0).

#### **5.4 Results**

There was a positive relationship between the duration of the initial transit duration on the host and the number of eggs laid by *T. euproctidis* in *M. sexta* eggs (Figure 5-2). On suspended *T. ni* eggs, the egg laying duration was the only tested behaviour influenced by suspension treatments; females spent more time laying eggs following a long transit than following either a short transit or no suspension (Table 5-1).



**Figure 5-2.** Number of *T. euproctidis* larvae developing in *Manduca sexta* host (model fit  $\pm$  95 % CIs) in relation to the initial transit duration on a suspended host egg.  $Y = 0.2x + 16.0$ ;  $r^2 = 0.350$ ;  $P < 0.001$

**Table 5-1:** Duration (seconds; median [Q1 – Q3]) of behaviours expressed by *Trichogramma euproctidis* when exploiting a *T.ni* egg suspended (short vs. long suspension) or not. See Methods for a description of the treatments.

Behaviour	No suspension	Short suspension	Long suspension	X <sup>2</sup>	p
Host feeding	34 [0 - 115]	0 [0 - 18]	0 [0 - 45]	2.06	0.36
Host drilling	171 [115 - 241]	98 [83 - 152]	108 [89 - 134]	2.11	0.35
Host evaluation	146 [96 - 199]	141 [116 - 159]	142 [93 - 162]	0.11	0.94
Egg laying	234 [191 - 352] a	273 [201-290] a	387 [333 - 661] b	6.33	0.04

Kruskal-Wallis test within a row. Following a significant difference among treatments, medians were tested using a Wilcoxon test with Bonferroni correction. Medians not followed by the same letter are significantly different.

## 5.5 Discussion

*Trichogramma euproctidis* females can perceive time and use this capacity to measure transit duration on a host egg and adjust their progeny allocation accordingly. Female wasps spent more time laying eggs in *T. ni* hosts and laid more eggs in *M. sexta* hosts following a longer initial transit duration than a short one, irrespective of host size. This capacity of *T. euproctidis* corresponds to a retrospective measure of time, as wasps had to remember the duration of a past even, in this case the initial transit duration on the host egg. In previous experiments, a mechanical measurement of the size of the host was discarded because small and large *T. minutum* wasps lay the same number of eggs, despite differences in the number of steps taken (Schmidt & Smith 1987,1989). It was also shown that they do not use visual assessment of the host, *T. minutum* wasps adjusting the number of eggs to lay in the dark (Schmidt & Smith 1985). Since both visual cues and number of steps are not used to estimate host size, it seems unlikely that *Trichogramma* wasps have the capacity to evaluate distances directly. The mechanisms by which *T. euproctidis* and other insects measure time still need to be determined, but energy expenditure could be a possible proxy, as shown in the braconid parasitoid *Microplitis croceipes* (Parent et al. in review).



None of the other behaviours measured were affected by the increased initial transit duration and therefore the perceived size of the host. The host feeding duration is simply related to the energy and nutrient requirements of the parasitoid wasp. The host evaluation in this case is more related to finding the drilling location. The drilling duration is dependent on the hardness of the chorion. As expected, a larger host would not necessarily lead to any modification of the duration of those behaviours.

To our knowledge, this is the first demonstration of a retrospective measure of time in an invertebrate and adds to the growing body of literature on the measure of time in invertebrates. This specific measure requires short-term memory, a capacity that has already been described for Trichogrammatidae (Kruidhof et al. 2012). Previous studies on time perception in insects have used prospective measures of time, with tested individuals responding after a given interval of time, either by choosing an odour (parasitoids; Parent et al. in review), extending their proboscis (bumblebees; Boisvert & Sherry 2006) or visiting a flower (bumblebees; Boisvert et al. 2007), as well as temporal training of cuttlefish (Jozet-Alves et al. 2013).

The number of larvae present in the host increased with the duration of the initial transit. Cannibalism during development might have reduced the number of larvae present for the measurement (Heslin & Merritt 2005). Despite this, we believe that it is a valid and conservative assessment of the egg investment by *T. euproctidis*.

The duration of the initial transit on the egg was measured by *T. euproctidis* to evaluate host size and decide the number of eggs to lay. For a given host size, our results showed that wasps laid more eggs when the initial transit duration increased. These results confirm and complement those obtained for *T. minutum* (Schmidt & Smith 1987), where the initial transit duration was shortened. The capacity to perceive time can likely be used for other ecologically important activities of parasitoids, such as in foraging and reproductive decisions while exploiting host patches. For free-living foragers such as parasitoids, predators, and pollinators, the capacity to measure time enables an accurate estimate of travel duration between patches and could also allow them to time their departure following patch exploitation. According to the Marginal Value Theorem (Charnov 1976), foragers are expected to leave a patch of resources when their rate of fitness gain (gain per unit of time) reaches the average value of the habitat, implicitly assuming that the forager can measure time. Our results confirm that

indeed parasitoids can measure time and therefore use a rate of fitness gain to optimize their behaviours.

## **5.6 Acknowledgements**

We would like to thank Danielle Thibodeau, Josianne Vaillancourt and Julie Frenette for their technical assistance. This research was supported by a postgraduate scholarship from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC).

## 5.7 References

- Bai, B., Luck, R. F., Forster, L., Stephens, B., & Janssen, J. M. 1992. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 64: 37-48.
- Boisvert, M.J. & Sherry, D.F. 2006. Interval timing by an invertebrate, the bumble bee *Bombus impatiens*. *Current Biology*, 16: 1636-1640.
- Boisvert, M.J., Veal, A.J. & Sherry, D.F. 2007. Floral reward production is timed by an insect pollinator. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274: 1831-1837.
- Boivin, G., Fauvergue, X. & Wajnberg, E. 2004. Optimal patch residence time in egg parasitoids: innate versus learned estimate of patch quality. *Oecologia*, 138: 640-647.
- Charnov, E.L. 1976. Optimal foraging, the Marginal Value Theorem. *Theoretical Population Biology*, 9: 129-136.
- Charnov, E.L. & Skinner, S.W. 1984. Evolution of host selection and clutch size in parasitoid wasps. *Florida Entomologist*, 67: 5-21.
- Craig, D.P.A., Vamon, C.A., Sokolowski, M.B.C., Wells, H. & Abramson, C.I. 2014. An assessment of fixed interval timing in free-flying honey bees (*Apis mellifera ligustica*): An analysis of individual performance. *PLoS ONE*, 9: 1-14.
- Gibbon, J. 1977. Scalar expectancy theory and Weber's law in animal timing. *Psychological Review*, 84: 279-325.
- Godfray, H.C.J. 1994. Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press.
- Grossman, K.E. 1973. Continuous, fixed-ratio, and fixed-interval reinforcement in honey bees. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 20: 105-109.
- Heslin, L.M. & Merritt, D.J. 2005. Cannibalistic feeding of larval *Trichogramma carverae* parasitoids in moth eggs. *Naturwissenschaften*, 92:435-439.
- Jozet-Alves, C., Bertin, M. & Clayton, N.S. 2013. Evidence of episodic-like memory in cuttlefish. *Current Biology*, 23: 1033-1035.
- Klomp, H. & Teerink, B.J. 1967. The significance of oviposition rate in the egg parasite, *Trichogramma embryophagum* Htg. *Archives Neerlandaises de Zoologie*, 17:350-375.

- Kruidhof, H.M., Pashalidou, F.G., Fatouros, N.E., Figueroa, I.A., Vet, L.E.M., Smid, H.M. & Huigens, M.E. 2012. Reward value determines memory consolidation in parasitic wasps. *PLoS ONE*, 7: 1-10.
- Nurindah, Cribb, B.W., Gordh, G. 1999. Experience acquisition by *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Australian Journal of Entomology*, 38: 115-119.
- Parent, J.P., Takasu, K., Brodeur, J. & Boivin, G. in review. Time perception-based decision making in a parasitoid wasp.
- Salt, G. 1934. Experimental studies in insect parasitism. II. Superparasitism. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 144: 455-576.
- Salt, G. 1936. Experimental studies in insect parasitism. IV. The effect of superparasitism on populations of *Trichogramma evanescens*. *Journal of Experimental Biology*, 13: 363-375.
- Schmidt, J.M. & Smith, J.J.B. 1987. Short interval time measurement by a parasitoid wasp. *Science*, 237: 903-905.
- Stephens, D.W. & Krebs, J.R. 1986. Foraging theory. Princeton University Press.
- Thiel, A. & Hoffmeister, T.S. 2004. Knowing your habitat: linking patch-encounter rate and patch exploitation in parasitoids. *Behavioral Ecology*, 15: 419-425.
- Todd, I.A. & Kacelnik, A. 1993. Psychological mechanisms and the Marginal Value Theorem: dynamics of scalar memory for travel time. *Animal Behaviour*, 46: 765-775.
- Wearden, J.H. & Penton-Voak, I.S. 1995. Feeling the heat: body temperature and the rate of subjective time, revisited. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B: Comparative and Physiological Psychology*, 48: 129-141.
- Wells, H. & Wells, P.H. 1983. Honey bee foraging ecology: optimal diet, minimal uncertainty or individual constancy? *The Journal of Animal Ecology*, 52: 829-836.





## **Chapitre 6: Size and age as determinants of walking speed in insects**

Jean-Philippe Parent, Jacques Brodeur et Guy Boivin

Soumis à Ecological Entomology

## 6.1 Abstract

Locomotion is an essential and costly activity for most animals. For insects, walking has received substantial attention, yet few studies have investigated the impact of body size and age on walking speed within a species. The first objective of this study was to survey the literature to test the hypothesis that, within an adult insect species, walking speed is proportional to size and inversely proportional to age. The second objective was to investigate these relationships in egg parasitoid species that use walking speed to evaluate host quality and where an impact of size or age on walking speed would induce a bias in the perception of resource quality. As predicted, within an insect species, walking speed generally increases with body size and decreases with age. Walking speed was size-dependent for *Trichogramma pintoi* and *Trichogramma minutum*, but was found to be both size- and age-independent for *Trichogramma euproctidis*. These results suggest that general patterns applicable to walking speed observed in other taxa can be generalized for most insects. This relationship becomes less intuitive in species that use locomotion as a measuring tool.

Key words: walking, speed, size, age, insect, locomotion, trichogrammatidae



## 6.2 Introduction

Locomotion enables organisms to locate resources and mates, avoid predation, escape from harsh environmental conditions and disperse into new habitats, and is therefore closely linked to multiple fitness traits (Wisco et al. 1997). Locomotion is one of the most energetically costly activities of animals, following growth and maintenance (Alexander 1999). Animal movement is affected by environmental (e.g., temperature, substrate, wind) and biomechanical (e.g., length of limb, stepping frequency) factors (Hurlbert et al. 2008).

We expect walking speed to increase with the size of an animal, through a positive relationship between size and limb length. For a given frequency of movement, a longer limb should enable an individual to walk faster, as demonstrated interspecifically in numerous taxa; for both vertebrates and invertebrates (McMahon 1975; Taylor & Heglund 1982; Garland Jr 1983; Christiansen 2002, Alexander 2005). However, there are a few cases where species have been found to be slower than other closely related species of equivalent size. For example, both the porcupine (*Erhitizon dorsatum*: Cottam & Williams 1943; Garland Jr 1983) and the skunk (*Mephitis mephitis*: Verts 1967; Garland Jr 1983) walk slower than other closely related species of similar size, probably because of their effective defensive mechanism and do not rely on escape. Intraspecific variation in walking speed has received less attention but the relationship is likely the same. Limb length influences positively walking speed in humans (Bereket 2005, Wall-Scheffler 2012), lizards (Irschick et al. 2005) and sea lions (Heyward 2011).

In insects, several studies have investigated the relationship between walking speed and size across species and concluded that walking speed does increase with size (e.g., Evans 1977; Heglund & Taylor 1988; Zollikofer 1994; Hurlbert et al. 2008). The few studies conducted at the intraspecific level showed a similar positive trend in insects (reviews by Zollikofer 1994 and Hurlbert et al. 2008) with some exceptions (Schmidt & Smith 1989 and below).

Age can also affect the walking speed of an individual. This relationship is likely to be negative because physiological and morphological deteriorations associated with aging reduce movement capacity. Walking speed decreases with age in primates [*Homo sapiens* (Salis 2000), *Macaca maura* (Jänicke et al. 1986), *Macaca mulatta* (Weed et al. 1997), *Macaca*

*silenus* (Jänicke et al. 1986), *Prebyttis cristatus* (Jänicke et al. 1986)], rodents (reviewed by Ingram 2000), and dogs [*Canis familiaris* (Head et al. 1997)]. Reductions in muscle strength and mass with age have been identified among the morphological deteriorations occurring in vertebrates (Evans & Grimby 1995). To our knowledge, no study has investigated the relationship between walking speed and age across species of insects. Intraspecifically, walking speed generally decreases with age in the fruit fly, *Drosophila melanogaster*, and the cockroach, *Blaberus discoidalis* (reviewed by Ridgel & Ritzmann 2005).

Variations in walking speed could impact aspects of an animal's biology other than their capacity to exploit resources or escape natural enemies. Some species use the duration of a walking bout to estimate resource proximity, abundance, and quality, and variations in walking speed could bias these estimates. For example, the egg parasitoids *Trichogramma euproctidis* and *Trichogramma minutum* use the duration of an initial transit on a host (period between the first contact on the host and the subsequent contact with the substrate) to estimate the size of a host egg (Schmidt & Smith 1987, Parent et al. submitted). They then adjust their progeny allocation according to the size of the host. In such cases, any factor influencing inter-individual walking speed such as size, or intra-individual walking speed such as age, could induce a biased estimate of the parameter measured while walking (distance to a resource or evaluation of its quality), unless the individual can compensate.

The first objective of this study was to survey the literature on walking speed in insects to test the hypothesis that, within a species, walking speed is proportional to size and inversely proportional to age. The second objective was to investigate, under laboratory conditions, these relationships in *Trichogramma* species that use transit duration to evaluate the quality of their host.

### **6.3 Materials and Methods**

#### *Data from the literature*

We compiled a list of references on the effects of intraspecific size and age on walking speed in insects by searching Google Scholar using the following keywords: speed, locomotion, walking insect, size, age. No specific time frame was used, all years being included. Based on published data, the ratios of size, age or walking speed were calculated using the formula:

maximum value / minimum value. Ratio values <1, =1 or >1 indicate that the size, age or speed value decreased, remained constant or increased, respectively. This approach enables comparison between species.

### *Biological model*

In *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), the size of the adults varies phenotypically together with the size of the host egg in which they developed (Martel et al. 2011), potentially altering their walking speed. Females of *Trichogramma pintoii* Voegelé, *Trichogramma minutum* Riley and *Trichogramma euproctidis* Girault were reared in two different host species to obtain parasitoids of different sizes. We used eggs of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) (volume of host egg  $\approx 0.28 \text{ mm}^3$ ; Bai et al. 1992) and *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae) (volume of host egg  $\approx 0.13 \text{ mm}^3$ ; Pak et al. 1986) to produce large and small females, respectively (Martel et al. 2011). All parasitized hosts were maintained at  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $50 \pm 5 \%$  RH and LD 16:8 h. As a proxy of parasitoid body size, the length of the right hind tibia was measured using a microscope, at 640x with a precision of  $1 \text{ }\mu\text{m}$ , coupled to a computer with the image analysis software Image Pro® (Media Cybernetics, Maryland). The host volume differences allowed for a large range of individual sizes in all three *Trichogramma* species (right hind tibia length: *T. pintoii*: range = 104 – 149  $\mu\text{m}$ ; *T. minutum*: range = 87 – 161  $\mu\text{m}$ ; *T. euproctidis*: range = 101-148  $\mu\text{m}$ ).

### *Measurement of walking speed*

*Trichogramma* females,  $16 \pm 12 \text{ h}$  after emergence, unfed, naïve and unmated, were isolated in an empty arena (12 x 10 x 1 mm) made of a wood flooring covered with white paint and glass walls and ceiling under ambient laboratory conditions ( $24 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , 850 lux). Their movements were recorded with Dino-Lite cameras (model AM-4012N-ZT, Taiwan: 640x480 at 15 frames per second) and data stored on Mini Video Recording System (Model KL92). Parasitoid movements were recorded for four minutes and walking speed was obtained by dividing the distance traveled by the time in motion using the software Bio-Tracking 1.5 ([www.bio-tracking.org](http://www.bio-tracking.org)). This software monitored the wasp's position (x, y coordinates) for each frame by using pixels. Distance traveled was the sum of wasp position differences in pixels (1 pixel = 0.065 mm) for the whole duration of the test. Walking speed is expressed in mm/s. In order

to prevent false measurement of movement (false positive), we excluded position differences of a single pixel (horizontally, vertically or diagonally). Recording started as soon as the wasp entered the arena. Time in motion was the total duration of movement greater than a single pixel. The minimal total time in motion obtained was 27 seconds.

#### *Effect of size on walking speed*

To quantify the effect of body size on walking speed of *Trichogramma* females, we measured the walking speed of large and small females. For *T. pintoi*, we measured the walking speed of 29 large females (tibia length: mean  $\pm$  SD:  $140 \pm 6 \mu\text{m}$ ) and 29 small females (tibia length:  $117 \pm 5 \mu\text{m}$ ). For *T. minutum*, we measured the walking speed of 34 large females (tibia length: mean  $\pm$  SD:  $148 \pm 7 \mu\text{m}$ ) and 31 small females (tibia length:  $116 \pm 8 \mu\text{m}$ ). For *T. euproctidis*, we measured the walking speed of 20 large females (tibia length: mean  $\pm$  SD:  $128 \pm 9 \mu\text{m}$ ) and 18 small females (tibia length:  $110 \pm 6 \mu\text{m}$ ).

#### *Effect of age on walking speed*

Since the walking speed of *T. euproctidis* was not impacted by size unlike the other two tested species (see Results section), we decided to test for an age effect on walking speed only for *T. euproctidis*. The effect of age on walking speed was tested, using the methodology described above, on 70 large *T. euproctidis* females, aged between 2 to 10 h at the onset of the experiment and fed honey water. These females were isolated and tested twice a day (morning (10:00 to 12:00) and afternoon (14:00 to 16:00)) on five consecutive days, a period corresponding to their average longevity under laboratory conditions, or until their death (Boivin & Lagacé 1999). All parasitoid were maintained at  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $50 \pm 5 \%$  RH and LD 16:8 h between tests.

#### *Statistical analysis*

Linear mixed effects analyses were used to characterize the relationship between walking speed and either size and age with data from the literature, using *lme4* (Bates et al. 2015). For body size, we entered log-transformed size ratios into the model as a fixed effect. For age, as a fixed effect, we entered log-transformed age ratios into the model. We considered insect family as a random effect on walking speed in order to control for phylogeny. Visual

inspection of residual plots did not reveal any obvious deviations from homoscedasticity or normality. P-values were obtained by likelihood ratio tests using the *car* package (Fox & Weisberg 2011).

For the three *Trichogramma* species tested under laboratory conditions, a Spearman correlation was used to examine the relationship between walking speed and parasitoid size. For *T. euproctidis*, differences in walking speed over time were evaluated with the Skillings-Mack test, a test for non-parametric repeated measures with missing values (Chatfield & Mander 2009). All statistical analyses were carried out with R software, version 3.2.0 (R Core Team 2015).

## 6.4 Results

### *Data from the literature*

For the intraspecific relationship between walking speed and size, data on 16 species of Hymenoptera were found and analysed (Table 6-1). For the relationship between walking speed and age, data on 6 insect species were found, across 3 orders (Table 6-2). There was a positive relationship between walking speed and size (Fig 6-1 A:  $y = 0.595x + 0.016$ ;  $\chi^2(1) = 22.312$ ;  $P < 0.00001$ ), while the relationship between walking speed and age was negative (Fig 6-1 B:  $y = -0.494x + 0.135$ ;  $\chi^2(1) = 5.5576$ ;  $P = 0.0184$ ).

**Table 6-1:** Relationship between walking speed and size in Hymenoptera species. Ratios are the proportion of maximum / minimum values of both size and speed. For the ratio columns: a value =1 means that the value did not change; a value >1 means an increase. For the relation column: “+” means a positive relationship between size and walking speed; “no” means there is no relationship between size and walking speed.

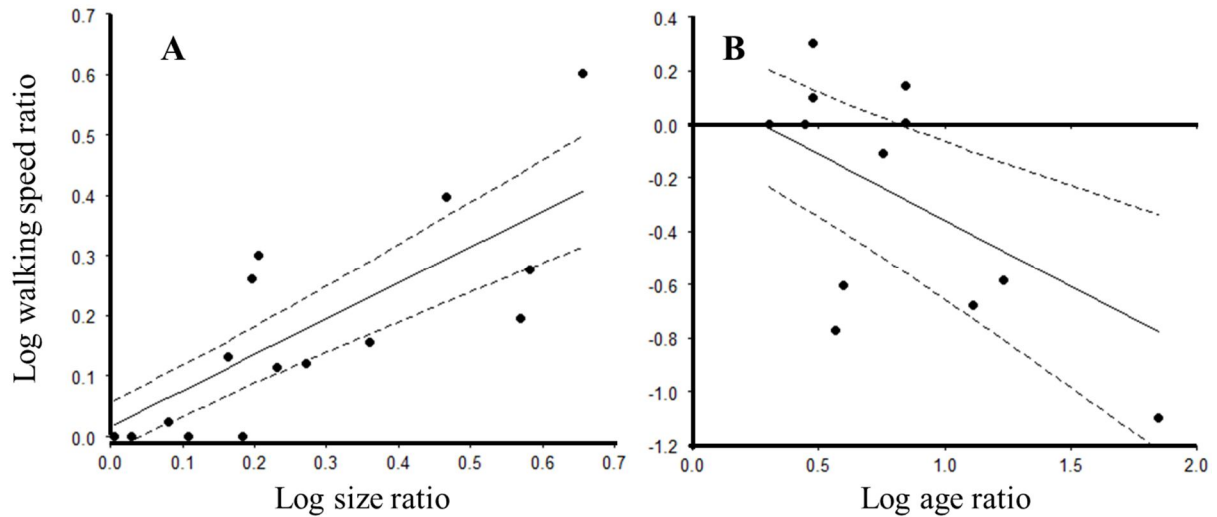
Family	Species	Size		Walking speed		Relation	Reference
		Range (mm)	ratio	Range (mm/s)	ratio		
Aphelinidae	<i>Aphelinus asychis</i>	0.25 – 0.40 <sup>1</sup>	1.6	30 – 60	2.0	+	Mason & Hopper 1997
Braconidae	<i>Diachasmimorpha longicaudata</i>	1.5 – 2.1 <sup>1</sup>	1.5	8.4 – 9.9	1.2	+	Lopez et al. 2009
Formicidae	<i>Acromyrmex versicolor</i>	2.5 - 7.3 <sup>2</sup>	2.9	10 – 25	2.5	+	Hurlbert et al. 2008
	<i>Atta cephalotes</i>	3.0 – 5.0 <sup>3</sup>	1.7	52 – 69	1.3	+	Burd & Aranwela 2003
	<i>Atta colombica</i>	3.2 – 15 <sup>2</sup>	4.5	20 – 80	4.0	+	Hurlbert et al. 2008
	<i>Eciton burchellii</i>	3.9 – 15 <sup>2</sup>	3.8	45 – 85	1.9	+	Hurlbert et al. 2008
	<i>Eciton hamatum</i>	3.8 – 14 <sup>2</sup>	3.7	70 – 110	1.6	+	Hurlbert et al. 2008
	<i>Messor pergandei</i>	3.0 – 5.6 <sup>2</sup>	1.9	31 – 41	1.3	no	Hurlbert et al. 2008
	<i>Nomamyrmex esenbeckii</i>	4.1 – 9.4 <sup>2</sup>	2.3	70 – 100	1.4	+	Hurlbert et al. 2008
	Scelionidae	<i>Telenomus podisi</i>	0.25 – 0.43 <sup>1</sup>	1.7	9.0 – 13	1.4	+
Trichogrammatidae	<i>Trichogramma evanescens</i>	.	.	3.3 – 5.5	1.7	+	Boldt 1974
		0.17 – 0.17 <sup>1</sup>	1.0	4.3 – 4.4	1.0	no	Pavlik 1993
		.	.	4.2 – 5.2	1.2	+	Boldt & Marston 1974
	<i>Trichogramma maidis</i>	0.12 – 0.15 <sup>1</sup>	1.2	4.5 – 4.6	1.0	no	Bigler et al. 1987
	<i>Trichogramma minutum</i>	.	.	4.3 – 5.2	1.2	+	Boldt 1974
		0.53 – 0.68 <sup>4</sup>	1.3	0.61 – 0.65	1.1	no	Schmidt & Smith 1989
		0.48 – 0.53 <sup>4</sup>	1.1	4.4 – 5.3	1.2	+	Marston & Ertle 1973
		0.44 – 0.66 <sup>5</sup>	1.5	.	1.0	no	van Hezewijk et al. 2000
		.	.	4.8 – 5.7	1.2	+	Boldt & Marston 1974
	<i>Trichogramma ostriniae</i>	0.15 – 0.16 <sup>1</sup>	1.1	.	1.0	no	Pavlik 1993
	<i>Trichogramma platneri</i>	0.15 – 0.18 <sup>1</sup>	1.2	6.4 – 12	1.8	+	Honda & Luck 2001
<i>Trichogramma pretiosum</i>	.	.	4.2 – 5.2	1.3	+	Boldt & Marston 1974	

<sup>1</sup> tibia length; <sup>2</sup> total hind leg length; <sup>3</sup> femur length; <sup>4</sup> body length; <sup>5</sup> wing length; “.” unavailable data

**Table 6-2:** Relationship between walking speed and age in insect species. Ratios are the proportion of maximum / minimum values of both age and speed. For the ratio columns: a value <1 means a decrease; a value of 1 means that the value did not change; a value >1 means an increase. For the relation column: “+” means a positive relationship between age and walking speed; “-“ means a negative relationship between age and walking speed; “no” means there is no relationship between age and walking speed.

Order (Superorder)	Family	Species	Age		Walking speed		Relation	Reference
			range	ratio	Range (mm/s)	ratio		
Blattodea (Dictyoptera)	Blaberidae	<i>Blaberus discoidalis</i>	1.0 – 60 <sup>1</sup>	60	.	.	-	Ridgel et al. 2003
Diptera	Drosophilidae	<i>Drosophila melanogaster</i>	3.0 – 17 <sup>2</sup>	5.7	0.26 – 0.20	0.78	no	Manenti et al. 2015
			1.0 – 47 <sup>2</sup>	47	.	.	-	Le Bourg 1987
			.	.	.	.	-	Fernandez et al. 1999
			0.5 – 8.5 <sup>1</sup>	17	12 – 3.0	0.26	-	Goddeeris et al. 2003
			4.0 – 43 <sup>2</sup>	11	4.3 – 0.25	0.06	-	Le Bourg et al. 1993
			3.0 – 30 <sup>2</sup>	10	.	.	-	Martin et al. 1999
			.	.	.	.	-	Ridgel & Ritzmann 2005
			1.0 -70 <sup>2</sup>	70	15 – 1.3	0.08	-	Leffelaar & Grigliatti 1983
			1.0 – 4.0 <sup>1</sup>	4.0	10 – 2.5	0.25	-	Gargano et al. 2005
			.	.	.	.	-	Kang et al. 2002
			7.0 – 42 <sup>2</sup>	6.0	.	.	-	Orr & Sohal 1994
			.	.	.	.	-	Arking & Wells 1990
			0.5 – 6.5 <sup>1</sup>	13	14 – 3.0	0.21	-	Cook-Wiens & Grotewiel 2002
			15 – 55 <sup>2</sup>	3.7	15 – 2.5	0.17	-	Le Bourg & Minois 1999
Hymenoptera	Muscidae	<i>Musca domestica</i>	5.0 – 13 <sup>2</sup>	2.8	.	1.0	no	Sohal & Buchan 1981
	Formicidae	<i>Acromyrmex subterraneus</i>	.	.	.	.	-	Constant et al. 2012
	Apidae	<i>Apis mellifera</i>	26 – 52 <sup>2</sup>	2.0	.	1.0	no	Rueppell et al. 2007
	Trichogrammatidae	<i>Trichogramma minutum</i>	4.0 – 28 <sup>3</sup>	7.0	3.6 – 5.1	1.4	+	Marston & Ertle 1973
			4.0 – 28 <sup>3</sup>	7.0	4.5 – 4.5	1.0	no	Marston & Ertle 1973
			1.0 – 3.0 <sup>2</sup>	3.0	0.30 – 0.60	2.0	+	van Hezewijk et al. 2000
			1.0 – 3.0 <sup>2</sup>	3.0	0.20 – 0.25	1.3	no	van Hezewijk et al. 2000

<sup>1</sup> weeks; <sup>2</sup> days; <sup>3</sup> hours; “.” unavailable data

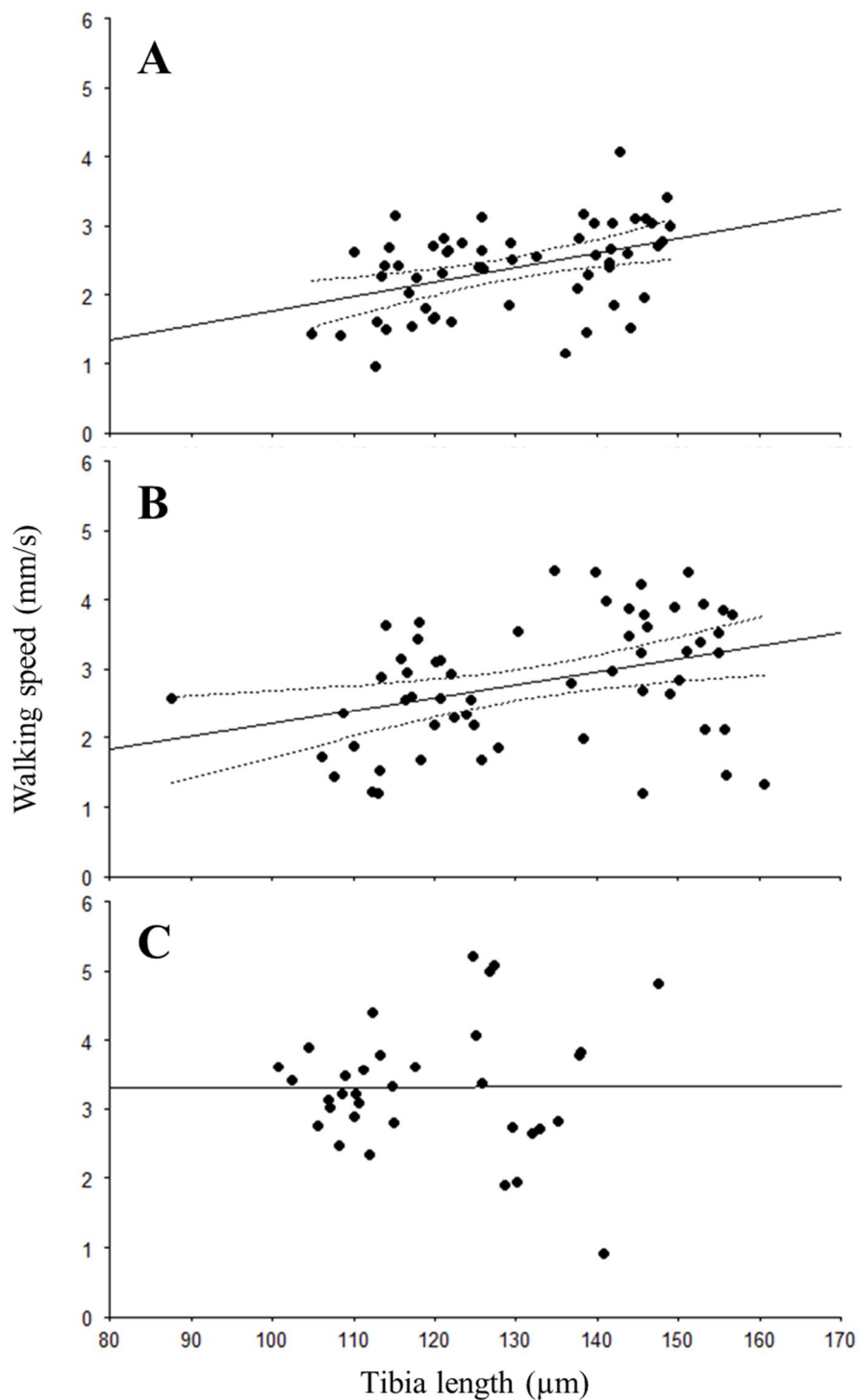


**Figure 6-1.** Relationships between walking speed ratio (Log-transformed data) and A) size ratio (data from table 1) and B) age ratio (data from table 2) for various insect species. Ratios were calculated by dividing the maximum value with the minimum value. A log transformation was applied to the ratios for the linear mixed model. Trendlines show the predictions of the fixed effects of the linear mixed model ( $\pm$  SE) fitted to the data.

#### *Effect of size on walking speed*

There was a positive relationship between walking speed and size for *T. pintoi* (Fig 6-2 A; range: 0.96 – 4.09 mm/s; mean  $\pm$  SD: 2.38  $\pm$  0.08 mm/s,  $r_{\text{spearman}} = 0.43$ ,  $P = 0.001$ ) and *T. minutum* (Fig 6-2 B; range: 1.20 – 4.45 mm/s; mean  $\pm$  SD: 2.86  $\pm$  0.11 mm/s,  $r_{\text{spearman}} = 0.36$ ,  $P = 0.006$ ), but no significant relationship was observed for *T. euproctidis* (Fig 6-2 C; range: 0.92 – 5.21 mm/s; mean  $\pm$  SD: 3.25  $\pm$  0.15 mm/s,  $r_{\text{spearman}} = 0.004$ ,  $P = 0.984$ ).

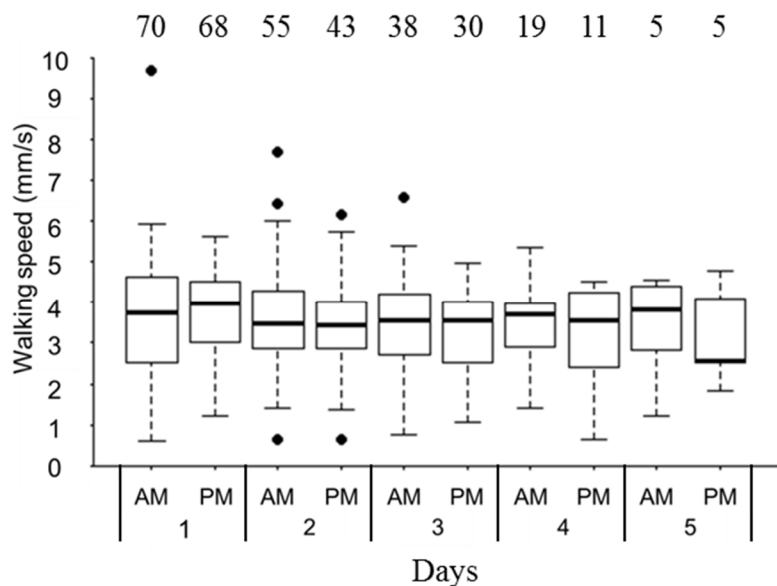




**Figure 6-2:** Relationships between walking speed and body sizes (right hind tibia length) in A) *Trichogramma pintoi*, B) *Trichogramma minutum*, and C) *Trichogramma euproctidis*. Trendlines show the predictions of a Spearman correlation ( $\pm$  95% CI) fitted to the data.

*Effect of age on walking speed*

There was no significant relationship between walking speed and age for *T. euproctidis* (Figure 6-3; range: 0.58 – 9.72 mm/s, mean  $\pm$  SD: 3.53  $\pm$  1.23 mm/s, Skillings-Mack test: SM = 7.78, P=0.56).



**Figure 6-3:** The relationship between walking speed and age of *Trichogramma euproctidis* females having emerged from eggs of *Ephestia kuehniella*. AM: measurement taken between 10:00 and 12:00; PM: measurement taken between 14:00 and 16:00. Black dots represent extreme values (1.5 x interquartile distance). Numbers above bars represent the number of individuals tested per period of time. Skillings-Mack test  $P > 0.05$ .

## 6.5 Discussion

### *Walking speed vs. Body size*

The only studies identified in this review that measured intraspecific relationship between walking speed and size concerned Hymenoptera. Numerous studies investigated aspects of walking (e.g. speed, stride length, frequency, allometry) in different groups of insects, however, none of these studies examined the intraspecific relationship between size and walking speed.

For all tested species of Hymenoptera, walking speed generally increases with body size within a given species (Figure 6-1A), a relationship similar to what is observed across insect species (Zollikofer 1994; Hurlbert et al. 2008). Mechanistically, the movement of a limb

during walking can be associated to the movement of an inverted pendulum (McMahon 1975; Biewener 2003) and because the length of the stride is usually proportional to the length of the limb, it is probably through an increase in stride length rather than an increase in stepping frequency that large individuals walk faster than small individuals. For a given frequency, a longer stride leads to a higher walking speed for the majority of tested species (16 out of 22 studies) (Zollikofer 1994; Irschick et al. 2005; Hurlbert et al. 2008; Wall-Scheffler 2012).

In ants, a positive relationship between size and walking speed has been reported both intraspecifically (Hurlbert et al. 2008) and interspecifically (Zollikofer 1994). Ants are provisioners that exploit resources exclusively through walking and the walking speed of individual workers can greatly impact the colony (Burd & Aranwela 2003). Large *Atta* ants walk faster and carry heavier loads than small individuals, improving the resource harvesting efficiency of the colony.

Another well-represented group in our literature review is *Trichogramma* wasps (Table 6-1). The quality of egg parasitoids as biological control agents depends on several attributes, including host searching. Walking speed has been used as a proxy of the capacity of egg parasitoids to find and kill pest host eggs (Bigler et al. 1987). Larger individuals tend to walk faster than small individuals (7 out of 12 studies). Some of the studies that did not report an increase in walking speed with parasitoid size used little variation in size (*Trichogramma evanescens* and *Trichogramma ostrinia*: size ratios of 1 and 7% respectively; Pavlik 1993), probably resulting in this absence of significant relationship.

For *T. pinto* and *T. minutum*, we found a positive relationship between size and walking speed, although previous studies showed conflicting results for *T. minutum* (size-dependant walking speed: Marston & Ertle 1973; Boldt 1974; Boldt & Marston 1974; size-independent walking speed: Schmidt & Smith 1989; van Hezewijk et al. 2000). *Trichogramma minutum* is actually a complex of species (Pinto et al. 1992; Pinto et al. 2003) and some of the observed differences could be associated to the genotype tested. Interestingly, the three studies showing a positive relationship between walking speed and size used the same strain of *T. minutum* (Marston & Ertle 1973; Boldt 1974; Boldt & Marston 1974).

Walking speed of *T. euproctidis* was size-independent (Fig 6-2 C), even if the size ratio was large (size ratio = 1.5). We hypothesize that this pattern is linked to the behaviour expressed by *T. euproctidis* when evaluating host size. *Trichogramma euproctidis* females use

the transit duration on a host egg to adjust their progeny allocation (Parent et al. submitted). If their walking speed varied with size, females of different sizes would perceive the same-sized host differently: smaller and slower individuals would perceive it as large while larger and faster individuals would perceive it as small. Large females of *T. evanescens*, whose walking speed increases with size, are reported to have a higher tendency to reject small size hosts than small females (Flanders 1935; Salt 1940). This could be due to a difference in perception of a same sized host. Females of different sizes could even allocate different number of eggs to same-sized hosts, resulting in a non-optimal progeny allocation. Constant walking speed could function as a mechanism allowing a uniform perception of host size and to compensate for phenotypic plasticity in parasitoid size. Size-independent walking speed in *T. euproctidis* supports the notion that females evaluate host quality through time perception rather than via a mechanical proxy such as number of steps (Schmidt & Smith 1987, 1989) or visual cues (Schmidt & Smith 1985).

#### *Walking speed vs. Age*

Walking speed of insects generally decreases with age within the same species (Figure 6-1 B). This decrease is common across taxa of invertebrates for which data are available, with 15 out of 22 studies measuring a decline (Table 6-2). Although most studies were on *D. melanogaster* (reviewed by Ridgel & Ritzmann 2005), it was also true for *B. discoidalis* and *A. subterraneus*. This pattern is likely caused by degradation of morphological structures with aging. In cockroaches, walking activity and speed decrease with age due to a deterioration of the tarsi (Ridgel et al. 2003) and the reduction of flight ability with age in moths is probably due to wing abrasion (Rockstein & Brandt 1963; Sappington & Burks 2014). Muscle or neural deterioration can also cause a reduction in walking speed (Ridgel & Ritzmann 2005). In contrast, *Musca domestica*'s walking speed remained constant with age (Table 6-2). However, it is plausible that walking speed in this study was measured too early in life (5 – 13 d), prior to physiological or neurological deteriorations. Fly longevity typically extends to 20-30 d (Cooper et al. 2004).

In Trichogrammatidae, studies report a stable and even an increase in walking speed with age. Walking speed was age-independent in *T. euproctidis* (Figure 3), as well as in *T. minutum* (Marston & Ertle 1973; van Hezewijk et al. 2000). When compared to other species

reported in Table 6-2, *Trichogramma* wasps are short lived as adults (*Trichogramma euproctidis*:  $\approx 5$  d (Doyon & Boivin 2005); *Trichogramma minutum*:  $\approx 6$  d (Greenberg et al. 2000); *Musca domestica*: 20-30 d (Cooper et al. 2004); *Apis mellifera*: 52 d (Rueppel et al. 2007); *Drosophila melanogaster*: 70 d (Leffelaar & Grigliatti 1983); *Blaberus discoidalis*: 60 weeks (Ridgel et al. 2003)). This short lifespan might prevent morphological degradation that would affect walking speed. Indeed, they might not live long enough for the wear on their tarsi to reduce walking speed.

The stability of walking speed throughout the lives of Trichogrammatidae is important considering how they measure the size of their hosts. If their walking speed was reduced by age, a similar-sized host would appear larger for older wasps than younger ones. They would therefore lay more than the optimal clutch size for the host. This constant walking speed with age prevents biased estimate of host size as it ages.

Along with Trichogrammatidae, the walking and flying capacity of *Apis mellifera* represents one of the few examples of a stable locomotor activity with age (Rueppel et al. 2007) which could not be attributable to either a short lifespan or measurements taken early in life. In this species, older bees forage for resources and they have to maintain their activity level when they need to travel the most. Another important reason for honeybees to keep a constant walking speed relates to the social transmission of information through the waggle dance (von Frisch 1967). This dance includes mainly three components: the angle to the upward position, which gives the direction of the resource, the duration of the waggle, which gives the distance traveled, and the intensity of the waggle, which gives the value of the resource (Seeley et al. 2000). Two locomotor activities, the speed and intensity of the waggle, need to be age-independent in order to transmit unbiased information about the value and the distance from the resource the bee has just exploited (Seeley et al. 2000). The proximal mechanism accounting for this independence between age and walking speed could be linked to a depletion of internal reserves of older bees, making them lighter, therefore compensating the reduction in muscle capacity observed in other species (Vance et al. 2009). A similar mechanism could be involved in *T. euproctidis*, although this needs to be investigated.

## **6.6 Acknowledgements**

We thank Félix-Antoine Robert, Danielle Thibodeau, Julie Frenette and Josianne Vaillancourt for technical assistance, Valisoa Razafindrakoto for her help with the bio-tracking software, and P.K. Abram and A. Leblanc for statistical help. J.P. Parent was supported by a Natural Sciences and Engineering Council of Canada (NSERC) Postgraduate scholarship.

## 6.7 References

- Abram, P. K., Parent, J. P., Brodeur, J., & Boivin, G. 2016. Size-induced phenotypic reaction norms in a parasitoid wasp: an examination of life-history and behavioural traits. *Biological Journal of the Linnean Society*, 117: 620-632.
- Alexander, R. M. 1999. *Energy for animal life*. Oxford University Press, Oxford.
- Alexander, R. M. 2005. Models and the scaling of energy costs for locomotion. *Journal of Experimental Biology*, 208: 1645-1652.
- Arking, R., & Wells, R. A. 1990. Genetic alteration of normal aging processes is responsible for extended longevity in *Drosophila*. *Developmental Genetics*, 11: 141-148.
- Bai, B., Luck, R. F., Forster, L., Stephens, B., & Janssen, J. M. 1992. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 64: 37-48.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker, S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67: 1-48.
- Bereket, S. 2005. Effects of anthropometric parameters and stride frequency on estimation of energy cost of walking. *Journal of sports medicine and physical fitness*, 45: 152-161.
- Biewener, A. A. 2003. *Animal locomotion*. Oxford University Press.
- Bigler, F., Meyer, A., & Bosshart, S. 1987. Quality assessment in *Trichogramma maidis* Pintureau et Voegelé reared from eggs of the factitious hosts *Ephestia kuehniella* Zell. and *Sitotroga cerealella* (Olivier). *Journal of Applied Entomology*, 104: 340-353.
- Boivin, G., & Lagacé, M. 1999. Effet de la taille sur la fitness de *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annales de la Société Entomologique de France*, 35: 371-378.
- Boldt, P. E. 1974. Temperature, humidity, and host: effect on rate of search of *Trichogramma evanescens* and *T. minutum* auctt.(not Riley, 1871). *Annals of the Entomological Society of America*, 67: 706-708.
- Boldt, P. T., & Marston, N. 1974. Eggs of the greater wax moth as a host for *Trichogramma*. *Environmental Entomology*, 3: 545-548.
- Burd, M., & Aranwela, N. 2003. Head-on encounter rates and walking speed of foragers in leaf-cutting ant traffic. *Insectes Sociaux*, 50: 3-8.

- Chatfield, M., & Mander, A. 2009. The Skillings–Mack test (Friedman test when there are missing data). *The Stata Journal*, 9: 299-305.
- Christiansen, P. E. R. 2002. Locomotion in terrestrial mammals: the influence of body mass, limb length and bone proportions on speed. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 136: 685-714.
- Constant, N., Santorelli, L. A., Lopes, J. F., & Hughes, W. O. 2012. The effects of genotype, caste, and age on foraging performance in leaf-cutting ants. *Behavioral Ecology*, 23: 1284-1288.
- Cook-Wiens, E., & Grotewiel, M. S. 2002. Dissociation between functional senescence and oxidative stress resistance in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 37: 1347-1357.
- Cooper, T. M., Mockett, R. J., Sohal, B. H., Sohal, R. S., & Orr, W. C. (2004). Effect of caloric restriction on life span of the housefly, *Musca domestica*. *The FASEB journal*, 18: 1591-1593.
- Cottam, C., & Williams, C. S. 1943. Speed of some wild mammals. *Journal of Mammalogy*, 24: 262-262.
- Doyon, J., & Boivin, G. 2005. The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. *Journal of Insect Science*, 5: 1-5.
- Evans, M. E. G. 1977. Locomotion in the Coleoptera Adephaga, especially Carabidae. *Journal of Zoology*, 181: 189-226.
- Evans, W. J., & Grimby, G. 1995. Muscle performance and structure in the elderly as studied cross-sectionally and longitudinally. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 50: 17-22.
- Fernandez, J. R., Grant, M. D., Tulli, N. M., Karkowski, L. M., & McClearn, G. E. 1999. Differences in locomotor activity across the lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 34: 621-631.
- Flanders, S.E. 1935. Host influence on the profligacy and size of *Trichogramma*. *Pan Pacific Entomologist*, 11, 175-177.
- Fox, J., & Weisberg, S. 2011. *An R companion to applied regression 2<sup>nd</sup> edition*. Sage, Thousand Oaks, CA, USA, Gargano, J. W., Martin, I., Bhandari, P., & Grotewiel, M. S. 2005. Rapid iterative negative geotaxis (RING): a new method for assessing age-related locomotor decline in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 40: 386-395.



- Garland Jr, T. 1983. Scaling the ecological cost of transport to body mass in terrestrial mammals. *American Naturalist*, 121: 571-587.
- Goddeeris, M. M., Cook-Wiens, E., Horton, W. J., Wolf, H., Stoltzfus, J. R., Borrusch, M., & Grotewiel, M. S. 2003. Delayed behavioural aging and altered mortality in *Drosophila*  $\beta$  integrin mutants. *Aging Cell*, 2: 257-264.
- Greenberg, S.M., Nordlund, D.A. & Wu, Z. 2000. Effect of *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) adult nutrition on longevity and oviposition. *Subtropical Plant Science*, 52: 42-46.
- Head, E., Callahan, H., Cummings, B. J., Cotman, C. W., Ruehl, W. W., Muggenberg, B. A., & Milgram, N. W. 1997. Open field activity and human interaction as a function of age and breed in dogs. *Physiology & Behavior*, 62: 963-971.
- Heglund, N. C., & Taylor, C. R. 1988. Speed, stride frequency and energy cost per stride: how do they change with body size and gait? *Journal of Experimental Biology*, 138: 301-318.
- Heyward, W. O. 2011. *Running Mechanics of the New Zealand sea lion (Phocarctos hookeri): changes with speed and size* (Doctoral dissertation, University of Otago).
- Honda, J. Y., & Luck, R. F. 2001. Interactions between host attributes and wasp size: a laboratory evaluation of *Trichogramma platneri* as an augmentative biological control agent for two avocado pests. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 100: 1-13.
- Hurlbert, A. H., Ballantyne, F., & Powell, S. 2008. Shaking a leg and hot to trot: the effects of body size and temperature on running speed in ants. *Ecological Entomology*, 33: 144-154.
- Ingram, D. K. 2000. Age-related decline in physical activity: generalization to nonhumans. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32: 1623-1629.
- Irschick, D. J., Carlisle, E., Elstrott, J., Ramos, M., Buckley, C., VanHooydonck, B., Meyers, J. & Herrel, A. 2005. A comparison of habitat use, morphology, clinging performance and escape behaviour among two divergent green anole lizard (*Anolis carolinensis*) populations. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85: 223-234.
- Jänicke, B., Coper, D., & Jänicke, U. A. 1986. Motor activity of different-aged Cercopithecidae: silvered-leaf monkey (*Presbytis cristatus* Esch.), lion-tailed monkey

- (*Macaca silenus* L.), moor macaque (*Macaca maura* Cuv.) as observed in the Zoological Garden, Berlin (West). *Gerontology*, 32: 133-140.
- Kang, H. L., Benzer, S., & Min, K. T. 2002. Life extension in *Drosophila* by feeding a drug. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99: 838-843.
- Le Bourg, E. 1987. The rate of living theory. Spontaneous locomotor activity, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 22: 359-369.
- Le Bourg, E., Lints, F. A., Fresquet, N., & Bullens, P. 1993. Hypergravity, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 105: 389-396.
- Le Bourg, É., & Minois, N. 1999. A mild stress, hypergravity exposure, postpones behavioral aging in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 34: 157-172.
- Leffelaar, D., & Grigliatti, T. 1983. Age-dependent behavior loss in adult *Drosophila melanogaster*. *Developmental Genetics*, 4: 211-227.
- López, O. P., Hénaut, Y., Cancino, J., Lambin, M., Cruz-Lopez, L., & Rojas, J. C. 2009. Is host size an indicator of quality in the mass-reared parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae)? *Florida Entomologist*, 92: 441-449.
- Manenti, T., Pertoldi, C., Nasiri, N., Schou, M. F., Kjærsgaard, A., Cavicchi, S., & Loeschcke, V. 2015. Inbreeding affects locomotor activity in *Drosophila melanogaster* at different ages. *Behavior Genetics*, 45: 127-134.
- Marston, N., & Ertle, L. R. 1973. Host influence on the bionomics of *Trichogramma minutum*. *Annals of the Entomological Society of America*, 66: 1155-1162.
- Martel, V., Darrouzet, É., & Boivin, G. 2011. Phenotypic plasticity in the reproductive traits of a parasitoid. *Journal of Insect Physiology*, 57: 682-687.
- Martin, J. R., Ernst, R., & Heisenberg, M. 1999. Temporal pattern of locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Comparative Physiology A*, 184: 73-84.
- Mason, P. G., & Hopper, K. R. 1997. Temperature dependence in locomotion of the parasitoid *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) from geographical regions with different climates. *Environmental Entomology*, 26: 1416-1423.
- McMahon, T. A. 1975. Using body size to understand the structural design of animals: quadrupedal locomotion. *Journal of Applied Physiology*, 39: 619-627.

- Orr, W. C., & Sohal, R. S. 1994. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 263: 1128-1130.
- Pak, G. A., Buis, H. C. E. M., Heck, I. C. C., & Hermans, M. L. G. 1986. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: Host-age selection. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 40: 247-258.
- Parent, J.P., Brodeur, J. & Boivin, G. Submitted. Around the globe in a few seconds: use of time in a decision-making process by a parasitoid.
- Pavlik, J. 1993. The size of the female and quality assessment of mass-reared *Trichogramma* spp. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 66: 171-177.
- Pinto, J. D., Kazmer, D. J., Platner, G. R., & Sassaman, C. A. 1992. Taxonomy of the *Trichogramma minutum* complex (Hymenoptera: Trichogrammatidae): allozymic variation and its relationship to reproductive and geographic data. *Annals of the Entomological Society of America*, 85: 413-422.
- Pinto, J. D., Platner, G. R., & Stouthamer, R. 2003. The systematics of the *Trichogramma minutum* species complex (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a group of important North American biological control agents: the evidence from reproductive compatibility and allozymes. *Biological Control*, 27: 167-180.
- R Core Team. 2015. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for statistical computing.
- Ridgel, A. L., Ritzmann, R. E., & Schaefer, P. L. 2003. Effects of aging on behavior and leg kinematics during locomotion in two species of cockroach. *Journal of Experimental Biology*, 206: 4453-4465.
- Ridgel, A. L., & Ritzmann, R. E. 2005. Insights into age-related locomotor declines from studies of insects. *Ageing Research Reviews*, 4: 23-39.
- Rockstein, M., & Brandt, K. F. 1963. Enzyme changes in flight muscle correlated with aging and flight ability in the male housefly. *Science*, 139: 1049-1051.
- Rueppell, O., Christine, S., Mulcrone, C., & Groves, L. 2007. Aging without functional senescence in honey bee workers. *Current Biology*, 17: 274-275.
- Sallis, J. F. 2000. Age-related decline in physical activity: a synthesis of human and animal studies. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32: 1598-1600.

- Salt, G. 1940. Experimental studies in insect parasitism. VII. The effect of different hosts on the parasite *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London A*, 15: 81-124.
- Sappington, T. W., & Burks, C. S. 2014. Patterns of flight behavior and capacity of unmated navel orangeworm (Lepidoptera: Pyralidae) adults related to age, gender, and wing size. *Environmental Entomology*, 43: 696-705.
- Schmidt, J. M., & Smith, J. J. B. 1985. The mechanism by which the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* responds to host clusters. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 39: 287-294.
- Schmidt, J. M., & Smith, J. J. B. 1987. Short interval time measurement by a parasitoid wasp. *Science*, 237: 903-905.
- Schmidt, J. M., & Smith, J. J. B. 1989. Host examination walk and oviposition site selection of *Trichogramma minutum*: Studies on spherical hosts. *Journal of Insect Behavior*, 2: 143-171.
- Seeley, T. D., Mikheyev, A. S., & Pagano, G. J. 2000. Dancing bees tune both duration and rate of waggle-run production in relation to nectar-source profitability. *Journal of Comparative Physiology A*, 186: 813-819.
- Sohal, R. S., & Buchan, P. B. 1981. Relationship between fluorescent age pigment, physiological age and physical activity in the housefly, *Musca domestica*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 15: 243-249.
- Taylor, C. R., & Heglund, N. C. 1982. Energetics and mechanics of terrestrial locomotion. *Annual Review of Physiology*, 44: 97-107.
- Van Hezewijk, B. H., Bouchier, R. S., & Smith, S. M. 2000. Searching speed of *Trichogramma minutum* and its potential as a measure of parasitoid quality. *Biological Control*, 17: 139-146.
- Vance, J. T., Williams, J. B., Elekonich, M. M., & Roberts, S. P. 2009. The effects of age and behavioral development on honey bee (*Apis mellifera*) flight performance. *Journal of Experimental Biology*, 212: 2604-2611.
- Verts, B. J. 1967. *Biology of the striped skunk*. University of Illinois Press. Urbana.
- Von Frisch, K. 1967. *The dance language and orientation of bees*. Cambridge, MA: Harvard University Press.

- Wall-Scheffler, C. M. 2012. Size and shape: Morphology's impact on human speed and mobility. *Journal of Anthropology*, 2012, 1-9.
- Weed, J. L., Lane, M. A., Roth, G. S., Speer, D. L., & Ingram, D. K. 1997. Activity measures in rhesus monkeys on long-term calorie restriction. *Physiology & Behavior*, 62: 97-103.
- Wisco, J. J., Matles, H., & Berrigan, D. 1997. Is the scaling of locomotor performance with body size constant? *Ecological Entomology*, 22: 483-486.
- Zollikofer, C. 1994. Stepping patterns in ants: II. Influence of body morphology. *Journal of Experimental Biology*, 192: 107-118.





**Chapitre 7: Thermal dilation of time: Impact of temperature on perceived travel duration in a parasitoid**

Jean-Philippe Parent, Jacques Brodeur et Guy Boivin

Soumis à *Animal Behaviour*



## 7.1 Abstract

Animals require a capacity to measure time to synchronize and optimise their behaviours. Although temperature affects most aspects of the behavioural ecology of invertebrates, few studies examined the impact of temperature on time perception. We investigated the influence of temperature on the perceived duration of a travel between host patches of an egg parasitoid, *Trichogramma euproctidis*. We mimicked travel between host patches by isolating wasps for a 24 h period (hereafter ‘travel’) at three different temperatures (14, 24 and 34°C) and next measured a number of behaviours associated with patch exploitation (patch residence time, rate of fitness gain at departure, time motionless, active exploitation time and number of hosts parasitized). Travel temperature did not influence the number of hosts parasitized per patch (14°C :  $36.3 \pm 1.3$  hosts; 24°C :  $38.5 \pm 1.3$  hosts; 34°C :  $38.3 \pm 1.3$  hosts). However, patch residence time, active exploitation time and time motionless significantly increased with an increase of travel temperature. Warm travel temperature negatively influenced the parasitoid’s rate of fitness gain during the last 15 minutes of patch exploitation (14°C:  $2.2 \pm 0.5$  hosts; 24°C:  $0.8 \pm 0.3$  hosts; 34°C:  $0.4 \pm 0.2$  hosts). For foraging parasitoid females, travels between host patches at warm temperatures thus appeared longer than at cool temperatures for a travel of 24 h. These results demonstrate the thermal sensitivity of time perception in parasitoids.

Key words: Time perception – Temperature – Parasitoid – Optimality models – Patch exploitation

## 7.2 Introduction

Animals are expected to optimize all physiological processes and behaviours related to immature development, resource acquisition and reproduction. They need to efficiently use their time to maximise lifetime fitness. Animals thus require a capacity to measure time in order to synchronize (e.g., exploiting a resource when it becomes available) and optimize (e.g., maximizing the rate of fitness gain) their behaviours.

Numerous studies have investigated the capacity of animals to measure interval durations, especially in birds and mammals (Clayton & Dickinson 1998, 1999; Zentall et al. 2001, 2008; Bird et al. 2003; Babb & Crystal 2005; Skov-Rickette et al. 2006; Ferkin et al. 2008; Feeney et al. 2009; Zinkivskay et al. 2009; Kouwenberg et al. 2009; reviewed by Clayton et al. 2009) but, to our knowledge, only seven studies have been conducted in insects, despite their importance as model organisms in behavioural ecology. The capacity of bumblebees to measure time has been demonstrated, both by training them to extend their proboscis after a given interval of time between meals (Boisvert & Sherry 2006) and by timing their visits to artificial flowers based on the interval at which they are refilled with sugars (Boisvert et al. 2007). In contrast, honey bees appear unable to measure time intervals (Grossman 1973; Craig et al. 2014). For parasitoids, three species have the capacity to measure time. The braconid wasp *Microplitis croceipes* can associate the duration of an interval between host encounters to an odour (Parent et al. submitted a), while two egg parasitoids *Trichogramma minutum* and *Trichogramma euproctidis* can measure the duration of an initial transit on the host to estimate its size and allocate the proper number of eggs to lay (Schmidt & Smith 1987; Parent et al. submitted b).

Time perception can be affected by biotic and abiotic factors. Biotic factors such as diet type (Meck & Church 1987a), hunger level (Zeiler 1991) and drugs (Maricq et al. 1981; Meck & Church 1987b) can influence subjective time flow, i.e. the speed at which time passes from an individual's point of view (Wearden & Penton-Voak 1995), either by speeding it up or slowing it down (Penton-Voak et al. 1996; Spetch & Rusak 1989). Time of day can also impact time perception. Humans mostly active during daytime experience a faster flow of time around 15:00, while it is the around 03:00 for people mostly active at night (Thor 1962). Temperature has been shown to modify the flow of subjective time in homeotherms (Wearden

& Penton-Voak 1995); following an increase in body temperature of human volunteers, the flow of subjective time increased, and vice-versa (Wearden & Penton-Voak 1995).

Temperature affects most life history traits in ectotherms (Huey and Kingsolver 1989), yet few studies examined the impact of temperature on time perception. In the dinoflagellate *Gonyaulax polyedra*, the duration of the circadian cycle increases with temperature (16°C = 22.5 h; 26°C = 26.8 h) (Hasting & Sweeney 1957). The only study in invertebrates that directly quantified the impact of temperature on the measure of time intervals used the parasitoid *Trichogramma dendrolimi* whose females rely on the duration of the transit on the host to evaluate its size (Schmidt & Pak 1991). Females were exposed to different temperatures during the host size evaluation process when walking on a *Mamestra brassicae* egg. For an equivalent host size, they laid a similar number of eggs per host regardless of temperature, probably because both the walking speed and the subjective flow of time increased with temperature, negating each other (Schmidt & Pak 1991). However, in order to single out the impact of temperature on time perception, it would be necessary to disentangle the impact of temperature on the measure of time from other physiological processes (walking speed in the example above).

The effect of temperature on subjective time flow can be best understood in the context of two contemporary time perception models: The Scalar Timing Model (SET; Gibbon 1977; Gibbon et al. 1984) and the Tuned-Trace Theory (TT; Staddon et al. 2002). The SET comprises three components: a clock based on a pacemaker, a memory and a decision mechanism. The pacemaker is emitting pulses at a given frequency and can be influenced by temperature, the frequency of the pulses being dependant on the metabolism rate (Hoagland 1935; Wearden & Penton-Voak 1995). The TT eliminates the notion of a pacemaker from the time perception capacity of animals that would use the decay of their memory to measure elapsed time. The decay of memory can also be affected by temperature (Erber 1976; Xia et al. 1998). For example, the forgetting process is stopped in the egg parasitoid *Trissolcus basalis* when females are exposed to either warm or cool temperatures (Abram et al. 2015), thereby indirectly influencing their capacity to measure time.

Optimality models assume that animals perceive time and use this capacity in decision-making processes (Charnov 1976; Stephens & Krebs 1986; Todd & Kacelnik 1993). The modification of subjective time flow by temperature would influence the perceived rate of

fitness gain, defined as the fitness gain per unit of time. As predicted by the Marginal Value Theorem (Charnov 1976), an animal should leave a patch when it reaches a given instantaneous rate of fitness gain during exploitation. Patch quality and travel costs between patches affect this rate and thereby the decision to leave a patch. The effect of temperature on the subjective flow of time could modify the perceived travel costs and therefore influence the patch exploitation behaviour.

In this paper, we examined how temperature influences the perception of travel duration between host patches in *T. euproctidis*, a parasitoid whose capacity to measure time has previously been established (Parent et al. submitted b). We mimicked travel between host patches by isolating wasps for a 24 h period, (hereafter ‘travel’) following Barrette et al. (2010).

### 7.3 Methods

#### *Insects*

*Trichogramma euproctidis* are small facultative gregarious egg endoparasitoids of a wide range of Lepidoptera species. The strain used in this experiment originated from Egypt and was reared on cold-killed eggs of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) at  $25 \pm 1$  °C,  $50 \pm 5$  % RH and LD 16:8 h following Martel et al. (2011). All wasps were isolated prior to emergence in 300 µl Beem<sup>®</sup> polyethylene capsules with a drop of honey-water.

#### *Travel treatments*

To measure the impact of temperature on perceived travel duration between host patches, two days old since emergence, unmated and naïve female wasps had to exploit a first host patch of four cold-killed 24 h old host eggs placed in a square of 0.2 cm of side on a filter paper disk at 24 °C. Using such a small first patch allowed to standardize the experience of the first patch (same number of hosts parasitized).

After exiting the first host patch, wasps were isolated for a period of 24 h, a proxy of travel time between patches, during which they were exposed to three temperature treatments (hereafter ‘travel temperature’): cool (14 °C), medium (24 °C) and warm (34 °C). After this

period, wasps were transferred for a fifteen minutes period of acclimation at patch temperature (24 °C) and then individually released on a second patch of 49 cold-killed 24 h old host eggs disposed in a square of 0.7 cm of side on filter paper.

#### *Standardization of the physiological age*

Females exposed for 24 h at different temperatures would have a different physiological age when exposed to the second patch, especially for minute insects that live around 5 days since the relative difference in age will be much greater (Doyon & Boivin 2005). Since age has been shown to affect patch exploitation behaviour (Wajnberg 2006; Wajnberg et al. 2006), wasps were exposed to two temperatures for 24 h prior to the first patch exploitation to standardize their physiological age when reaching the second patch (Table 7-1). This way, all adult wasps were exposed to the same quantity of degree-hours and temperature variation (mean: 24 °C; range: 14 °C – 34 °C) prior to the exploitation of the second patch. This protocol also balanced for the order of the first and second 24 h temperature exposition and 12 wasps were used per temperature and order of exposition; for a total of 24 females per temperature treatment. The order of temperature expositions prior to the first patch exploitation for a given travel temperature did not have an effect on the patch exploitation behaviours measured (see Table S1). Therefore all following analysis only used travel temperature.

**Table 7-1.** Description of temperature treatments prior to and during ‘travel’ of *Trichogramma euproctidis* wasps to standardize their physiological age, expressed in cumulative degree-hour (d-h), when reaching the 2<sup>nd</sup> patch. Parasitoids were exposed to different combinations of three 24 h temperature (T). The 3<sup>rd</sup> 24 h temperature exposition corresponds to the ‘travel temperature’.

1 <sup>st</sup> 24 h T exposition (°C)	(Cumulative d-h)	2 <sup>nd</sup> 24 h T exposition (°C)	1 <sup>st</sup> patch (Cumulative d-h)	3 <sup>rd</sup> 24 h T exposition (°C)	2 <sup>nd</sup> patch (Cumulative d-h)
24	576	34	1392	14	1728
34	816	24	1392	14	1728
14	336	34	1152	24	1728
34	816	14	1152	24	1728
14	336	24	912	34	1728
24	576	14	912	34	1728

**Table 7-S.** Comparison of different order of temperature expositions prior to travel temperature for exploitation behaviours (mean  $\pm$  SE) of *Trichogramma euproctidis* in patches of *Ephestia kuehniella* eggs. In all cases, there was no effect of the order of temperature exposition, using Wilcoxon tests. See text of Material and Methods for more information.

	Cold travel (14 °C)				Medium travel (24 °C)				Warm travel (34 °C)			
	Medium	Warm	$\chi^2$	P	Cold	Warm	$\chi^2$	P	Cold	Medium	$\chi^2$	P
Patch residence time	151 $\pm$ 16	122 $\pm$ 17	1.48	0.22	250 $\pm$ 42	255 $\pm$ 32	0.65	0.42	384 $\pm$ 67	371 $\pm$ 77	0.12	0.72
Active exploitation time	94.8 $\pm$ 6.5	90.1 $\pm$ 9.9	0.64	0.42	129 $\pm$ 12	112 $\pm$ 11	1.02	0.31	121.7 $\pm$ 7.8	127.8 $\pm$ 6.9	1.04	0.31
Time motionless	56 $\pm$ 14	31 $\pm$ 13	1.52	0.22	121 $\pm$ 41	143 $\pm$ 26	0.48	0.49	262 $\pm$ 68	243 $\pm$ 75	0.12	0.72
Rate of fitness gain at departure	2.0 $\pm$ 0.7	2.4 $\pm$ 0.9	0.12	0.73	0.58 $\pm$ 0.34	1.08 $\pm$ 0.50	0.40	0.53	0.55 $\pm$ 0.37	0.20 $\pm$ 0.13	0.22	0.64
Number of hosts parasitized	36.4 $\pm$ 2.2	36.2 $\pm$ 1.4	0.42	0.52	38.8 $\pm$ 1.4	38.3 $\pm$ 2.3	0.12	0.73	39.2 $\pm$ 1.3	37.4 $\pm$ 2.3	0.45	0.50

### *Patch exploitation measurement*

The second patch exploitation was video-recorded to measure: patch residence time (time between the first contact with a host and leaving the patch for more than 1 minute), rate of fitness gain at departure (number of hosts parasitized in the last 15 minutes of residence, see below), active exploitation time (time exploiting a host or moving inside the patch), time motionless (time spent not moving inside the patch) and the number of hosts parasitized (hosts in which an egg was laid with visual confirmation of ovipositor insertion, abdominal contractions and marking). Rate of fitness gain at departure was set at 15 minutes in order to reduce the zeros in the number of hosts parasitized just before departure. Calculations were also done for 5 and 10 minutes (Boivin et al. 2004; Wajnberg et al. 2006), and all methods led to similar results. Patch boundary was set as the equivalent of one *Trichogramma* wasp body length out of the square egg grid.

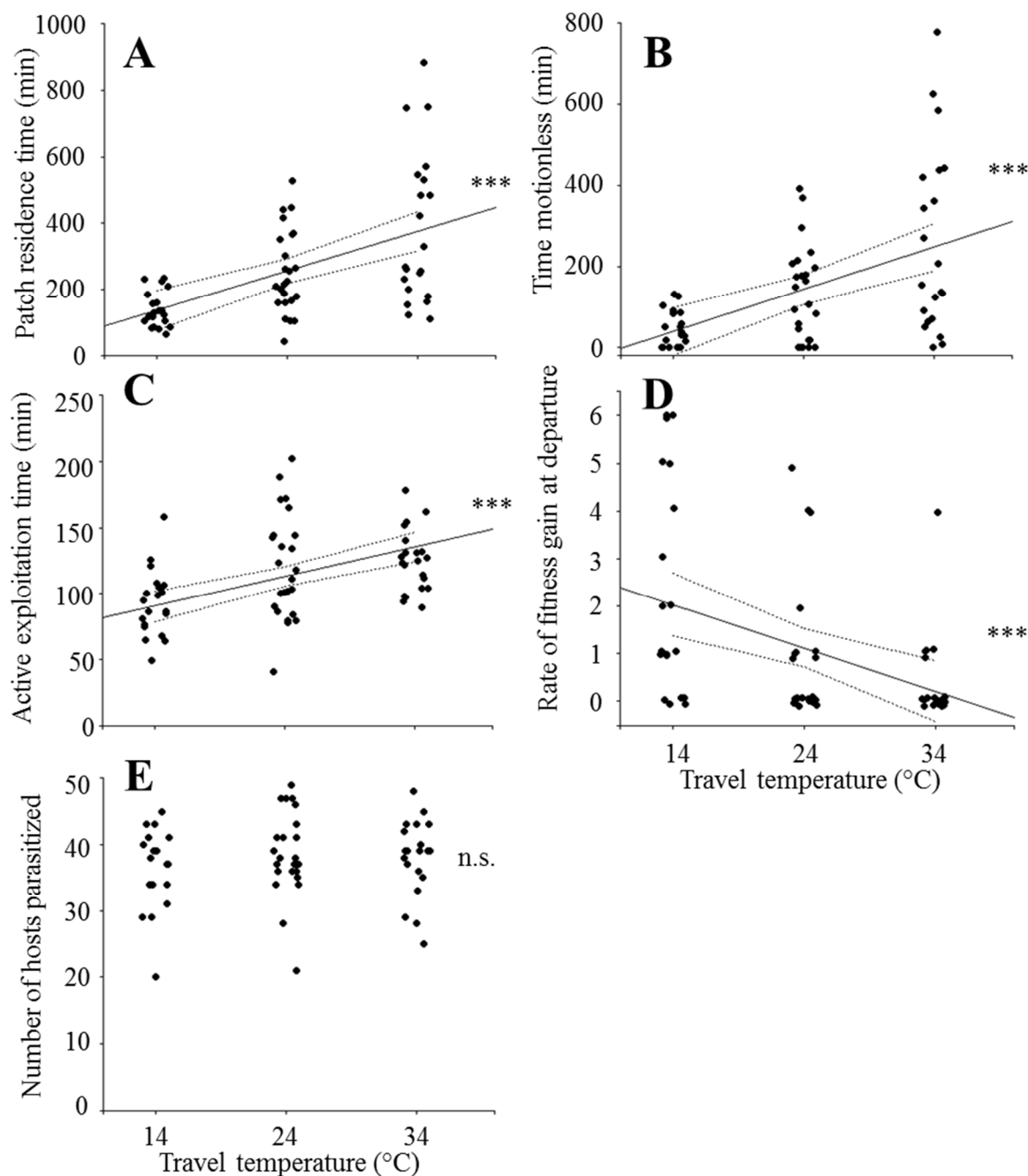
### *Statistical analyses*

To measure the effect of travel temperature on patch residence time and time motionless, data were transformed with a reciprocal to homogenise variances and analysed with linear regressions. For clarity, untransformed data are presented. We tested the effect of travel temperature on active exploitation time by using a linear regression. The effect of travel temperature on rate of fitness gain at departure and number of hosts parasitized were analysed by Generalized Linear Models (GLMs) with a Poisson distribution (Crawley 2012). All statistical analyses were carried out with R software, version 3.2.0 (R Core Team 2015).

## **7.4 Results**

The temperature experienced by female parasitoids during travel time significantly increased patch residence time in the second patch (Figure 1A:  $y = -0.0002x + 0.0110$ ,  $r^2 = 0.3171$ ,  $P < 0.00001$ ). When exploiting a patch, the amount of time spent motionless increased with travel temperature (Figure 1B:  $y = -0.001x + 0.034$ ;  $r^2 = 0.153$ ;  $P = 0.0041$ ). To know if time motionless alone explained the increase in patch residence time, we measured active exploitation time. Active exploitation time also increased with travel temperature (Figure 1C:  $y = 2.3x + 58.7$ ;  $r^2 = 0.289$ ;  $P < 0.001$ ). High travel temperature negatively influenced the parasitoid's rate of

fitness gain at departure from the patch (Figure 1D:  $Z = -5.196$ ;  $P < 0.0001$ ). Travel temperature did not influence the number of hosts parasitized (Figure 1E: cool =  $36.3 \pm 1.3$ ; medium =  $38.5 \pm 1.3$ ; warm;  $38.3 \pm 1.3$ ;  $Z = 1.047$ ;  $P = 0.295$ ).



**Figure 7-1.** Effect of travel temperature on (A) Patch residence time, (B) Time motionless, (C) Active exploitation time, (D) Rate of fitness gain at departure and (E) Number of hosts parasitized of *T. euproctidis* females in a patch of 49 *E. kuehniella* eggs following travel (isolation period of 24 h) at different temperatures (14, 24 and 34°C). To ease visualization of the



results, data points were jittered around the exact travel temperature value. Trendlines show the predictions ( $\pm$  SE) of a linear regression fitted to the data for figures 1A, B and C: \*\*\* indicates  $p < 0.001$ . Trendlines show the predictions ( $\pm$  SE) of a GLM with Poisson errors fitted to the data for figures 1D and 1E: \*\*\* indicates  $p < 0.001$ ; n.s. indicates  $p > 0.05$ .

## 7.5 Discussion

The temperature experienced by *T. euproctidis* females during the time interval between the exploitation of the two host patches modified their subjective time perception. As a consequence, the exploitation of the second host patch, although it was done at 24°C for all treatments, was modified for all parameters measured, except for the number of hosts parasitized (see below). Wasps traveling at warmer temperature perceived a relatively longer travel duration through an increase in subjective time flow and stayed longer in the subsequent patch than wasps traveling at cooler temperature. The patch residence time thus increased with travel temperature. An important proportion of patch residence time is attributable to time spent motionless (14°C: 33%; 24°C: 52%; 34°C: 67%), but the active exploitation time also significantly increased. Accordingly, the rate of fitness gain at departure was negatively influenced by high travel temperature.

Our experimental design was successful in separating a change in the perception of subjective time from other physiological processes potentially acting as buffers. When the temperature treatment is applied during host patch exploitation, both the perception of subjective time and the activity of the insect are modified, and the resulting effect cannot be assigned to a single factor, such as the effect of temperature during host evaluation by *T. dendrolimi* (Schmidt & Pak 1991). By applying the temperature treatment to the period between the exploitation of two host patches, and by keeping the temperature constant during patch exploitation, the behavioural differences observed arise from the perception of subjective time by female parasitoids.

The number of hosts parasitized by *T. euproctidis* did not increase together with an increase in both patch residence time and active exploitation time, contrary to what was expected following Amat et al. (2006). The most plausible explanation is that our experimental design did not allow us to measure differences in parasitism rate, the female wasps having used all their available eggs towards the end of the patch exploitation. *Trichogramma euproctidis* females

have on average  $35.1 \pm 5.2$  eggs at emergence (Doyon & Boivin 2005), which is similar to the average number of hosts parasitized in each treatment.

Our results help shed light on the most appropriate model to describe time perception in parasitoids. The impact of temperature during travel time on the subjective time flow of *T. euproctidis* appears to be incompatible with the TT model (Staddon et al. 2002). In this model, time is perceived as the memory associated with the first host patch exploitation which fades with time in the brain of *Trichogramma* wasps. The longer the time interval between patch exploitation, the more fade the memory should be. Abram et al. (2015) have recently shown that the process of forgetting in parasitoids can be slowed or even stopped by an increase or decrease in temperature. At low temperature, the rate of memory loss would be slowed and the travel between patches would appear shorter, consistent with the TT model and the present results. However, at high temperature, the memory loss process would also be slowed and the travel temperature would thus also appear shorter, in contrast with what we observed. Time perception models based on pacemakers, like the SET, appear to better concur with the results of our experiment, as an increase in temperature would increase the pulse rate of the pacemaker, making travel appear longer, while a decrease in temperature would slow the pulse rate resulting in a reduction of the perceived travel time.

Temperature during patch exploitation also affects the behaviour of the female. When *T. euproctidis* and the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) were subjected to different temperatures during patch exploitation, females stayed for a shorter period of time at high temperature than at low temperature (Moiroux et al. 2014; Moiroux et al. 2016). While the authors suggested that these results were due to an increase in walking speed at high temperature, enabling the female to exploit the patch faster, a modification of the perception of subjective time could have also played a role on the perceived host encounter rate. At a warm temperature, the increase in walking speed would increase the rate of fitness gain at departure, while the increase in subjective time flow would decrease the perceived rate of fitness gain at departure. Therefore, to some extent, walking speed and subjective time flow will negate each other, like for *T. dendrolini* (Schmidt & Pak 1991). These two combined effects would allow parasitoids to exploit optimally the patches, although this still needs to be determined.

The fact that temperature modifies how parasitoids exploit host patches, not only through changes in their physiology but also through their perception of time, implies that changes in

temperature could affect trophic relationships between parasitoids and their hosts. Global climate change will affect the temperatures and temperature fluctuations experienced by parasitoids (Stocker et al. 2013) and will impact the efficiency of parasitoids on agricultural and forestry pests, such as host-parasitoid synchronization, parasitoid fecundity and sex allocation (Hance et al. 2007). We can conclude that warm or cool travel temperatures increase and decrease respectively patch residence time of *T. euproctidis*. This could impact the number of patches exploited by a parasitoid female throughout her life. Further studies should investigate the relationship between number of eggs parasitized and travel temperature in different species and experimental settings to confirm this temperature-independence. Testing parasitoids of different climate zones could also allow us to test the effect of different optimal temperatures, local adaptation and acclimation on time perception.

## **7.6 Acknowledgements**

We thank Danielle Thibodeau, Julie Frenette and Josianne Vaillancourt for technical assistance. J.P. Parent was supported by a Natural Sciences and Engineering Council of Canada (NSERC) Postgraduate scholarship.

## 7.7 References

- Abram, P. K., Cusumano, A., Peri, E., Brodeur, J., Boivin, G., & Colazza, S. 2015. Thermal stress affects patch time allocation by preventing forgetting in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology*, 26: 1326-1334.
- Amat, I., Castelo, M., Desouhant, E., & Bernstein, C. 2006. The influence of temperature and host availability on the host exploitation strategies of sexual and asexual parasitic wasps of the same species. *Oecologia*, 148: 153-161.
- Babb, S. J., & Crystal, J. D. 2005. Discrimination of what, when, and where: Implications for episodic-like memory in rats. *Learning and Motivation*, 36: 177-189.
- Barrette, M., Boivin, G., Brodeur, J. & Giraldeau, L.-A. 2010. Travel time affects optimal diets in depleting patches. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64: 593-598.
- Bird, L. R., Roberts, W. A., Abroms, B., Kit, K. A., & Crupi, C. 2003. Spatial memory for food hidden by rats (*Rattus norvegicus*) on the radial maze: studies of memory for where, what, and when. *Journal of Comparative Psychology*, 117: 176-187.
- Boisvert, M. J., & Sherry, D. F. 2006. Interval timing by an invertebrate, the bumble bee *Bombus impatiens*. *Current Biology*, 16: 1636-1640.
- Boisvert, M. J., Veal, A. J., & Sherry, D. F. 2007. Floral reward production is timed by an insect pollinator. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274: 1831-1837.
- Boivin, G., Fauvergue, X., & Wajnberg, E. 2004. Optimal patch residence time in egg parasitoids: innate versus learned estimate of patch quality. *Oecologia*, 138: 640-647.
- Charnov, E. L. 1976. Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, 9: 129-136.
- Clayton, N. S., & Dickinson, A. 1998. Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature*, 395: 272-274.
- Clayton, N. S., & Dickinson, A. 1999. Scrub jays (*Aphelocoma coerulescens*) remember the relative time of caching as well as the location and content of their caches. *Journal of Comparative Psychology*, 113: 403-416.
- Clayton, N. S., Russell, J., & Dickinson, A. 2009. Are animals stuck in time or are they chronosthetic creatures? *Topics in Cognitive Science*, 1: 59-71.

- Craig, D. P. A., Varnon, C. A., Sokolowski, M. B., Wells, H., & Abramson, C. I. 2014. An assessment of fixed interval timing in free-flying honey bees (*Apis mellifera ligustica*): An analysis of individual performance. *PLoS ONE*, 9: e101262.
- Crawley, M. J. 2012. *The R book*. John Wiley & Sons.
- Doyon, J., & Boivin, G. 2005. The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. *Journal of Insect Science*, 5: 1-5.
- Erber, J. 1976. Retrograde amnesia in honeybees (*Apis mellifera carnica*). *Journal of Comparative Physiology and Psychology*, 90: 41-46.
- Feeney, M. C., Roberts, W. A., & Sherry, D. F. 2009. Memory for what, where, and when in the black-capped chickadee (*Poecile atricapillus*). *Animal Cognition*, 12: 767-777.
- Ferkin, M. H., Combs, A., Pierce, A. A., & Franklin, S. 2008. Meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*, have the capacity to recall the “what”, “where”, and “when” of a single past event. *Animal Cognition*, 11: 147-159.
- Gibbon, J. 1977. Scalar expectancy theory and Weber's law in animal timing. *Psychological Review*, 84: 279-325.
- Gibbon, J., Church, R. M., & Meck, W. H. 1984. Scalar timing in memory. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 423: 52-77.
- Grossmann, K. E. 1973. Continuous, fixed-ratio, and fixed-interval reinforcement in honey bees. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 20: 105-109.
- Hance, T., van Baaren, J., Vernon, P. & Boivin, G. 2007. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. *Annual Review of Entomology*, 52: 107-126.
- Hastings, J.W. & Sweeney, B.M. 1957. On the mechanism of temperature independence in a biological clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 43: 804-811.
- Hoagland, H. 1935. Pacemakers in relation to aspects of behavior. MacMillan, New York.
- Huey, R. B., & Kingsolver, J. G. 1989. Evolution of thermal sensitivity of ectotherm performance. *Trends in Ecology & Evolution*, 4: 131-135.
- Kouwenberg, A. L., Walsh, C. J., Morgan, B. E., & Martin, G. M. 2009. Episodic-like memory in crossbred Yucatan minipigs (*Sus scrofa*). *Applied Animal Behaviour Science*, 117: 165-172.
- Maricq, A. V., Roberts, S., & Church, R. M. 1981. Methamphetamine and time estimation. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 7: 18-30.

- Martel, V., Darrouzet, É., & Boivin, G. 2011. Phenotypic plasticity in the reproductive traits of a parasitoid. *Journal of Insect Physiology*, 57: 682-687.
- Meck, W. H., & Church, R. M. 1987a. Cholinergic modulation of the content of temporal memory. *Behavioral Neuroscience*, 101: 457-464.
- Meck, W. H., & Church, R. M. 1987b. Nutrients that modify the speed of internal clock and memory storage processes. *Behavioral Neuroscience*, 101: 465-475.
- Moiroux, J., Brodeur, J., & Boivin, G. 2014. Sex ratio variations with temperature in an egg parasitoid: behavioural adjustment and physiological constraint. *Animal Behaviour*, 91: 61-66.
- Moiroux, J., Abram, P.K., Louâpre, P., Barrette, M., Brodeur, J. & Boivin, G. 2016. Influence of temperature on patch residence time in parasitoids: physiological and behavioural mechanisms. *The Science of Nature*, 103: 1-10.
- Parent, J.P., Takasu, K., Brodeur, J. & Boivin, G. Submitted a. Time perception-based decision making in a parasitoid wasp.
- Parent, J.P., Brodeur, J. & Boivin, G. Submitted b. Around the globe in a few seconds: use of time in a decision-making process by a parasitoid.
- Penton-Voak, I. S., Edwards, H., Percival, A., & Wearden, J. H. 1996. Speeding up an internal clock in humans? Effects of click trains on subjective duration. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 22: 307-320.
- R Core Team. 2015. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for statistical computing.
- Schmidt, J. M., & Smith, J. J. B. 1987. Short interval time measurement by a parasitoid wasp. *Science*, 237: 903-905.
- Schmidt, J.M. & Pak, G.A. 1991. The effect of temperature on progeny allocation and short interval timing in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology*, 16: 345-353.
- Skov-Rackette, S. I., Miller, N. Y., & Shettleworth, S. J. 2006. What-where-when memory in pigeons. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 32: 345-358.
- Spetch, M. L., & Rusak, B. 1989. Pigeons' memory for event duration: Intertrial interval and delay effects. *Animal Learning & Behavior*, 17: 147-156.
- Staddon, J. E. R., Chelaru, I. M., & Higa, J. J. 2002. A tuned-trace theory of interval-timing dynamics. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 77: 105-124.

- Stephens, D. W., & Krebs, J. R. 1986. *Foraging theory*. Princeton University Press.
- Stocker, T.F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M., Allen, S.K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V. & Midgley P.M. 2013. IPCC, 2013: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Thor, D. H. 1962. Diurnal variability in time estimation. *Perceptual and Motor Skills*, 15: 451-454.
- Todd, I. A., & Kacelnik, A. 1993. Psychological mechanisms and the marginal value theorem: dynamics of scalar memory for travel time. *Animal Behaviour*, 46: 765-775.
- Wajnberg, E. 2006. Time allocation strategies in insect parasitoids: from ultimate predictions to proximate behavioral mechanisms. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60: 589-611.
- Wajnberg, E., Bernhard, P., Hamelin, F., & Boivin, G. 2006. Optimal patch time allocation for time-limited foragers. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60: 1-10.
- Wearden, J. H., & Penton-Voak, I. S. 1995. Feeling the heat: Body temperature and the rate of subjective time, revisited. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 48: 129-141.
- Xia, S.Z., Feng, C.H. & Guo, A.K. 1998. Temporary amnesia induced by cold anesthesia and hypoxia in *Drosophila*. *Physiology and Behavior*, 65: 617-623
- Zeiler, M. D. 1991. Ecological influences on timing. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 17: 13-25.
- Zentall, T. R., Clement, T. S., Bhatt, R. S., & Allen, J. 2001. Episodic-like memory in pigeons. *Psychonomic Bulletin & Review*, 8: 685-690.
- Zentall, T. R., Singer, R. A., & Stagner, J. P. 2008. Episodic-like memory: pigeons can report location pecked when unexpectedly asked. *Behavioural Processes*, 79: 93-98.
- Zinkivskay, A., Nazir, F., & Smulders, T. V. 2009. What–where–when memory in magpies (*Pica pica*). *Animal Cognition*, 12: 119-125.

## Chapitre 8: Discussion générale

### Retour sur la problématique générale et les résultats principaux

Les parasitoïdes régulent de nombreux aspects de leur vie en fonction du temps. Dans le cadre de cette thèse, j'ai étudié la capacité des parasitoïdes à mesurer le temps ainsi que l'effet de la température sur cette mesure du temps. Les principales contributions de cette thèse sont (i) la démonstration de la mesure prospective du temps chez *Microplitis croceipes*, de la relation entre la mesure du temps et la dépense énergétique ainsi que de la capacité d'associer une odeur à un intervalle de temps; (ii) la démonstration de la mesure rétrospective du temps chez *Trichogramma euproctidis* et de son rôle dans l'évaluation de l'hôte; (iii) une description de la relation entre la vitesse de marche et la taille et l'âge chez les insectes, et d'un phénomène de compensation de la vitesse de marche chez *T. euproctidis*; (iv) la démonstration de la thermosensibilité de la perception du temps lors du déplacement entre agrégats d'hôtes chez *T. euproctidis*. Ces résultats constituent la première preuve directe de la capacité de mesurer le temps chez des guêpes parasitoïdes. Ils représentent aussi la première démonstration de la modification du flot subjectif du temps par la température chez un insecte. Ces conclusions ouvrent la porte à de nombreuses possibilités de recherche.

### Perspective de recherche

#### *Thermosensibilité de la mesure du temps*

Les résultats du chapitre 7 démontrent une thermosensibilité de la mesure du temps de *T. euproctidis* lors du déplacement entre des agrégats d'hôtes. Nous avons émis l'hypothèse que cet effet serait causé par une modification de la fréquence d'émission du « pacemaker » du « Scalar Expectancy Theory » (SET) (Figure 2-1), laquelle serait accélérée ou décélérée selon l'effet de la température sur des processus métaboliques. L'effet de la température sur la mesure du temps chez les parasitoïdes n'est pas contre-intuitif puisque ce sont des organismes poïkilothermes.

Les données de la littérature démontrent une thermosensibilité de la mesure du temps chez les homéothermes, un résultat plutôt surprenant. En effet, dans leur revue de littérature, Wearden & Penton-Voak (1995) ont démontré que le temps subjectif était modifié autant par une



augmentation qu'une diminution de la température corporelle chez l'humain, bien que les exemples associés à une baisse de température soient plus rares.

La comparaison entre les homéothermes et les poïkilothermes devient intéressante lorsque l'on considère l'ampleur de l'impact de la température sur le temps subjectif. Au chapitre 7, chez *T. euproctidis*, une augmentation d'environ 42% de la température corporelle a entraîné un prolongement du temps de résidence de 44%. Cette comparaison a ses limites, puisque l'augmentation de la durée de déplacement perçue n'est pas nécessairement équivalente à l'augmentation du temps de résidence. Toutefois, on constate que l'effet de la température est d'environ 1 :1 entre le pourcentage d'augmentation de température et de prolongement du temps de résidence. Chez l'humain, cette relation n'est pas la même. Wearden & Penton-Voak (1995) ont trouvé qu'une augmentation de la température corporelle de 0.3% se traduit par une augmentation du temps subjectif d'environ 12%. De plus, leur revue de littérature sur des études précédentes suggère qu'une augmentation de la température corporelle de 1% chez l'humain mène à une modification du temps subjectif de 30%. Il est hasardeux de comparer les homéothermes aux poïkilothermes avec seulement deux espèces, bien que le nombre d'études chez l'humain soit important. Il semblerait tout de même qu'une modification de la température corporelle affecte plus la mesure du temps des homéothermes que celle des poïkilothermes.

Ainsi, sur cette base très fragile, nous pourrions qualifier la mesure subjective du temps de relativement thermosensible chez les homéothermes et de relativement thermorésistante chez les poïkilothermes. Ceci pourrait résulter de structures protéiques différentes ou de la présence de protéines chaperonnes comme des protéines de stress- ou de choc-thermiques (Feder & Hoffmann 1999; Hochachka & Somero 2002; Somero 1995) chez les poïkilothermes permettant de résister à des variations de températures alors que celles des endothermes seraient plus thermosensibles puisque spécialisées pour une fine fourchette de températures (Angilletta et al. 2010). Il faudrait donc comparer la thermosensibilité de la mesure du temps de multiples groupes d'endothermes et de poïkilothermes afin de vérifier si cette relation se confirme. La comparaison de poïkilothermes vertébrés (reptiles, amphibiens, etc.) ainsi que du rat-taupe nu, *Heterocephalus glaber*, un rare mammifère poïkilotherme (Buffenstein et al. 2001)) à des endothermes, permettrait aussi de tester l'effet de la distance évolutive sur cette thermosensibilité du flot subjectif du temps.

### *Vitesse de marche et perception du temps*

Les relations de la vitesse de marche avec la taille et l'âge chez *Trichogramma* suscitent plusieurs questions. Tel que discuté au Chapitre 6, l'indépendance entre la vitesse de marche et la taille chez *T. euproctidis* permettrait une évaluation précise de la taille de l'hôte sur la base de la durée du transit initial. Chez certaines espèces de trichogrammes, dont *T. pintoï*, la vitesse de marche augmente avec la taille. Cette espèce pourrait donc être plus sensible aux effets des variations de la taille de ses individus sur la perception des hôtes. Chez *T. evanescens* les femelles plus grosses ont une plus forte tendance à rejeter les hôtes de petites tailles que les petites guêpes (Flanders 1935; Salt 1940). Puisque les œufs pondus par une grosse ou une petite femelles dans les hôtes de petites tailles donneront tout de même naissance à des guêpes viables et fécondes, ce comportement semble supporter l'idée que la taille de l'individu peut biaiser son évaluation de l'hôte. Il serait intéressant de déterminer les conséquences sur la valeur adaptative des différentes stratégies utilisées par les espèces de trichogrammes pour évaluer la taille de l'hôte. Pour y parvenir, nous pourrions comparer la ponte de grosses et petites femelles de *T. pintoï* à celles de *T. euproctidis* pour un hôte de même taille. La taille de la ponte des femelles de *T. pintoï* devrait diminuer avec la taille de l'individu, alors qu'elle serait indépendante de la taille chez *T. euproctidis*.

La relation entre la vitesse de marche et la taille de *T. minutum* demeure incertaine puisque plusieurs expériences ont révélé des résultats variables (dépendante de la taille: Marston & Ertle 1973; Boldt 1974; Boldt & Marston 1974; indépendante de la taille: Schmidt & Smith 1989; van Hezewijk et al. 2000). *Trichogramma minutum* représente un complexe d'espèces (Pinto et al. 1992; Pinto et al. 2003) et le génotype testé par diverses équipes de recherche pourrait expliquer les différences mesurées. Il serait donc intéressant de déterminer la variabilité de la relation entre la taille et la vitesse de marche chez différents génotypes.

La relation entre la vitesse de marche et l'âge chez *T. euproctidis* mériterait d'être approfondie. Tel que discuté au Chapitre 6, la vitesse de marche diminue avec l'âge en général chez les insectes. Pourtant, la vitesse de marche de *T. euproctidis* reste stable. Cette constance permet une mesure uniforme de la taille d'un hôte tout au long d'une vie chez cette espèce. Il faudrait donc déterminer si l'âge affecte différemment les espèces dont la vitesse de marche augmente avec la taille, dont *T. pintoï* et *T. minutum*.

Le ou les mécanismes permettant à *T. euproctidis* de conserver une vitesse de marche constante restent à déterminer. L'abeille à miel parvient à maintenir une capacité de vol en diminuant son poids corporel de 43% (Vance et al. 2009), principalement au niveau des tissus de l'abdomen, du tractus digestif et du rectum (Harrison 1986). Une réduction de la masse des tissus internes avec l'âge pourrait expliquer comment *T. euproctidis* maintient sa vitesse constante. Peser des individus tout au long de leur vie permettrait de tester cette hypothèse.

#### *Mesure du temps chez l'abeille à miel*

Quelques études sur la mesure prospective du temps à court terme ont été réalisées chez les hyménoptères, avec des résultats positifs chez *Bombus impatiens* (Boisvert & Sherry 2006, Boisvert et al. 2007), mais non concluants pour *Apis mellifera* (Grossman 1973, Craig et al. 2014).

L'étude de Grossman (1973) visait non pas à démontrer la perception du temps chez l'abeille, mais bien à évaluer l'effet et la persistance d'un entraînement à intervalle fixe, à ratio de réponses fixe et à réponses continues sur la capacité d'acquisition et d'extinction de l'apprentissage. L'abeille devait pénétrer dans un tube et, en y entrant, coupait un rayon infra-rouge, processus nécessitant cinq secondes. Lorsque le rayon s'interrompait, l'abeille recevait une récompense sucrée. Puis, lors des 90 secondes suivantes, l'interruption du rayon infra-rouge n'accordait pas de récompense. En observant les entrées de l'abeille dans le tube, la fréquence des interruptions du rayon était uniforme tout au long de l'intervalle, ce qui ne correspond pas au comportement d'un animal percevant le temps. En effet, on s'attend à ce qu'il y ait (i) une diminution de la fréquence des interruptions tout de suite après l'obtention de la réponse puisque la période d'attente vient tout juste de commencer et (ii) une augmentation de la fréquence des interruptions tout près de la fin de l'intervalle. Selon les résultats de cette étude, les abeilles ne semblent pas percevoir le temps, et ce même si elles constituent l'un des principaux modèles pour l'étude du rythme circadien (Frisch & Aschoff 1987; Wagner et al. 2013). Des résultats similaires, toujours chez l'abeille, ont été obtenus plus récemment par l'équipe de Craig et al. (2014), où la fréquence des interruptions du rayon par l'abeille était uniforme tout au long de l'intervalle, et ce pour une large gamme d'intervalles de temps (15, 30, 60 et 120 sec).

L'absence de résultats démontrant une perception du temps chez les abeilles est surprenante : pour optimiser leur comportement de collecte de pollen et de nectar, elles doivent

être en mesure de percevoir le temps. Plusieurs problèmes méthodologiques auraient pu mener à l'obtention de résultats erronés. Dans l'étude de Craig et al. (2014), les six premiers renforcements lors de l'entraînement de l'abeille étaient attribués sans période d'attente, une contrainte de leur méthodologie. Cette contrainte a pu diminuer l'efficacité de l'entraînement en renforçant une réponse tout de suite après l'obtention d'une récompense. Ce début d'apprentissage nuit à l'obtention d'une phase d'extinction tout de suite après l'obtention de la récompense alimentaire. Cette explication n'est par contre pas valide pour l'expérience de Grossman (1973).

Une autre des causes potentielles de la différence de résultat entre les abeilles et les bourdons serait l'absence immédiate de conséquences négatives suivant la réponse. En effet, l'effort requis pour l'extension du proboscis est minimal : il y a donc peu d'incitatif à ne pas répondre tout de suite après la récompense. Dans la même logique, l'entrée et la sortie d'un tube, bien que plus demandant énergétiquement, serait insuffisante pour justifier l'apparition d'une phase d'extinction (Grossman 1973).

Une option pour solutionner ce problème méthodologique serait d'ajouter une conséquence à la réponse tout de suite après la récompense afin de générer une période réfractaire. Afin d'y parvenir, deux méthodologies différentes pourraient être utilisées : ajouter une conséquence négative suite à l'extension du proboscis ou utiliser le transport entre des fleurs artificielles, semblable à la méthodologie de Boisvert et al. (2007).

Des études ont démontré la capacité d'*A. mellifera* à retenir l'extension du proboscis si on l'associe à un choc électrique (Vergoz et al. 2007; Carcaud et al. 2009). Combiner cette capacité à une composante temporelle pourrait permettre de démontrer la capacité des abeilles à mesurer le temps. En associant la première moitié d'un intervalle à un choc électrique et la seconde moitié à l'absence de récompenses, nous pourrions mesurer une diminution de la fréquence d'extension du proboscis, aussi appelé phase d'extinction.

Une autre méthodologie serait d'utiliser le coût du déplacement pour prouver la capacité de percevoir le temps d'*A. mellifera*. Dans leur expérience chez *B. impatiens*, Boisvert et al. (2007) ont simulé une situation plus naturelle en utilisant des fleurs artificielles se remplissant de nectars à différents taux. Le coût dans ce cas survenait lors d'une visite à une fleur avant qu'elle ne soit remplie. La période d'évitement des fleurs riches en nectar équivaldrait à la phase d'extinction. On pourrait donc s'attendre à ce que les abeilles, comme les bourdons testés par

Boisvert et al. (2007), visitent les fleurs plus pauvres en nectar en attendant que les fleurs plus riches se remplissent. Cette méthodologie se transférerait facilement aux abeilles et permettrait de tester la mesure du temps en incluant une conséquence négative lors de visites prématurées.

Si les abeilles possèdent effectivement la capacité de mesurer le temps, nous pourrions tester la thermosensibilité de la mesure prospective du temps. Cela nécessite un modèle biologique qui a la capacité de mesurer le temps de façon prospective ainsi que d'exprimer un comportement démontrant sa perception du temps à différentes températures. Dans le cadre de cette thèse, *M. croceipes* ne constituait pas un bon modèle puisque la méthodologie précédente ne peut être utilisée à différentes températures. En effet, la réponse de vol de *M. croceipes* ne se fait qu'à l'intérieur d'une étroite fourchette de températures. L'abeille présenterait plus de potentiel pour ce type d'expérience : en effet, cette dernière peut être active à l'intérieur d'une très grande fourchette de température: de 15 à 35° Celsius (revue par Kevan & Baker 1983). De plus, la contention de l'abeille permettrait de facilement modifier la température corporelle en utilisant des tubes en cuivres placées en contact avec de l'eau chaude ou froide. Il serait ainsi possible, suite à un entraînement à intervalle fixe à une température constante, de mesurer le déplacement temporel de la réponse de l'abeille lorsqu'exposée à différentes températures.

#### *La mesure du temps et le bien-être animal*

La mesure du bien-être des animaux, autant d'élevage que de laboratoire, constitue un souci depuis plusieurs années. La recherche concerne principalement l'absence de bien-être, la douleur et la souffrance animale (Mason & Latham 2004; Yeates & Main 2008). Cette emphase vient probablement d'une plus grande facilité à mesurer des conséquences physiologiques et comportementales associées à une situation de souffrance animale. De nombreuses méthodes pour mesurer l'impact de mauvaises conditions chez les animaux ont été développées (e.g. la présence de maladies, la douleur, le faible taux de croissance, l'immunité déficiente, les niveaux élevés de glucocorticoïdes (Yeates & Main 2008)). Par contre, le bien-être n'est pas que l'absence d'effets négatifs, mais aussi la présence d'effets positifs (Seligman & Csikszentmihalyi 2014; Yeates & Main 2008).

Depuis quelques années, une tendance vers une mesure positive du bien-être se développe (Boissy et al. 2007). Toutefois, cet intérêt se heurte à un problème méthodologique : comment mesurer une expérience positive? Parmi les signaux répertoriés d'une mesure positive

du bien-être, on note le jeu, les relations sociales positives, le synchronisme des comportements en situation sociale, etc. Certaines de ces réponses positives sont difficiles à mesurer car elles se produisent peu fréquemment (par exemple, la course chez le veau, une forme de jeu, n'occupe que 175 s sur une période de 24 h lorsqu'ils sont bien nourris alors qu'en situation de faim, la course diminue à environ 100 s, une fraction minimale d'une journée qui rend sa mesure plutôt difficile (Krachun et al. 2010)). Les comportements révélant l'état des individus, autant positif que négatif, sont aussi souvent difficiles à mesurer, principalement parce que ces animaux d'élevages sont d'anciennes proies. Les signes apparents de faiblesse augmenteraient la probabilité de prédation (Weary et al. 2009). Finalement, l'appréciation du bien-être a tout intérêt à utiliser des mesures continues et non discrètes, facilitant la comparaison de différents systèmes d'élevages, ou permettant de combiner différents facteurs à la fois. Il y a donc un intérêt à développer une méthode de mesure du bien-être qui pourrait fonctionner autant pour le bien-être positif que négatif, et applicable à une multitude d'espèces et de situations.

La mesure subjective du temps pourrait contribuer à l'évaluation du bien-être. Comme cela a déjà été démontré, de nombreux facteurs affectent la mesure du temps : la diète (Meck & Church 1987a; Zeiler 1991), l'entraînement au « clicker » (Penton-Voak et al. 1996), la durée de l'intervalle entre les tests (Spetch & Rusak 1989), le moment de la journée (Thor 1962), la drogue (Maricq et al. 1981; Meck & Church 1987b) et la température (revue par Wearden & Penton-Voak 1995; Chapitre 7). L'état de bien-être d'un animal pourrait aussi avoir une influence sur sa mesure du temps subjectif. En situation où le bien-être est négativement affecté, le flot du temps subjectif accélérerait. À l'inverse, en situation où le bien-être est positivement affecté, le flot du temps subjectif ralentirait. Autrement dit : le temps paraîtrait plus long en situation de stress qu'en situation de repos, comme chez l'humain (Chavez 2003).

Une des méthodologies les plus utilisées pour démontrer la mesure du temps chez les animaux est l'entraînement à intervalle fixe. Cette méthode consiste à donner une récompense lorsque l'animal fait une action précise, consistant principalement à appuyer sur un levier ou un bouton, après un intervalle de temps donné (Skinner 1938). Le conditionnement opérant, consistant à associer une récompense à une réponse comportementale a déjà été utilisée chez plusieurs espèces domestiques (cochon : Robert et al. 1997; vache: Holm et al. 2002; poule : Lagadic & Faure 1987; cheval : Williams et al. 2004; mouton : Baldwin 1979a; chèvre: Baldwin 1979b; vison: Hansen et al. 2002). Une méthode d'évaluation du bien-être utilisant le

conditionnement opérant pourrait donc être utilisée dans une large gamme d'espèces domestiquées où les problèmes de bien-être demeurent importants.

La méthode serait semblable à une étude de biais cognitif, défini comme un biais systématique dans le processus d'information selon l'état émotionnel de l'individu (Mendl et al. 2009), mais utilisant le flot du temps. Premièrement, l'animal serait entraîné à répondre à intervalle fixe pour obtenir une récompense. À ce moment, on pourrait quantifier la réponse de l'animal selon plusieurs facteurs : le temps moyen de réponse, la latence avant la première réponse, le moment d'obtention de la fréquence maximale de réponses, etc. (Boisvert & Sherry 2006). Ensuite, une fois l'entraînement terminé, l'animal se retrouverait dans une autre situation (lait pasteurisé vs lactoreplaceur pour l'alimentation des veaux, bran de scie vs plancher latté, isolement vs contact avec congénères, etc.) afin de mesurer à nouveau sa réponse. La réponse s'exprimerait hâtivement en situation de détérioration du bien-être de l'animal (par exemple, un animal en contact avec ses congénères puis isolé), alors que la réponse s'exprimerait tardivement pour une augmentation du bien-être (par exemple, un animal isolé puis mis en contact avec ses congénères). Cela permettrait d'évaluer et de quantifier la différence de bien-être entre ces deux situations, et ainsi obtenir une mesure du bien-être perçu par l'animal.

## **Conclusion**

La perception du temps semble s'étendre aux insectes. Plusieurs espèces d'hyménoptères ayant la capacité de mesurer le temps, il devient intéressant de déterminer à quel moment dans leur histoire évolutive les insectes ont développé cette capacité. Il serait aussi possible de tester la perception du temps chez les insectes amétaboles, et même chez d'autres groupes d'invertébrés, comme les mollusques. Suite à la démonstration que les plantes peuvent se comporter selon les prédictions de la quête optimale (Louâpre 2011), on pourrait même tester leur capacité à mesurer le temps. L'essentiel reste à identifier la méthodologie adaptée au modèle.

## Références

- Adler, F.R. & Kotar, M. 1999. Departure time versus departure rate: how to forage optimally when you are stupid. *Evolutionary Ecology Research*, 1: 411-421.
- Angilletta, M.J., Niewiarowski, P.H. & Navas, C.A. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology*, 27: 249-268.
- Angilletta, M.J., Cooper, B.S., Schuler, M.S. & Boyles, J.G. 2010. The evolution of thermal physiology in endotherms. *Frontiers in Bioscience E*, 2: 861-881.
- Babb, S.J. & Crystal, J.D. 2005. Discrimination of what, when, and where: Implications for episodic-like memory in rats. *Learning and Motivation*, 36: 177-189.
- Bai, B., Luck, R.F., Forster, L., Stephens, B. & Janssen, J.M. 1992. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 64: 37-48.
- Baldwin, B.A. 1979a. Operant studies on the behavior of pigs and sheep in relation to the physical environment. *Journal of Animal Science*, 49: 1125-1134.
- Baldwin, B.A. 1979b. Operant studies on shape discrimination in goats. *Physiology & Behavior*, 23: 455-459.
- Barrette, M., Wu, G.-M., Brodeur, J., Giraldeau, L.-A. & Boivin, G. 2009. Testing competing measures of profitability for mobile resources. *Oecologia*, 158: 757-764.
- Beling, I. 1929. Über das zeitgedächtnis der bienen. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 9: 259-338.
- Biever, K.D. & Boldt, P.E. 1971. Continuous laboratory rearing of the diamondback moth and related biological data. *Annals of the Entomological Society of America*, 64: 651-655.
- Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M.B., Moe, R.O., Spruijt, B., Keeling, L.J., Winckler, C., Forkman, B., Dimitrov, I., Langbein, J., Bakken, M., Veissier, I. & Aubert, A. 2007. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology & Behavior*, 92: 375-397.
- Boisvert, M.J., & Sherry, D.F. 2006. Interval timing by an invertebrate, the bumble bee *Bombus impatiens*. *Current Biology*, 16: 1636-1640.



- Boisvert, M.J., Veal, A.J. & Sherry, D.F. 2007. Floral reward production is timed by an insect pollinator. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274: 1831-1837.
- Boivin, G. & Lagacé, M. 1999. Effet de la taille sur la fitness de *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annales de la Société Entomologique de France*, 35: 371-378.
- Boldt, P.E. 1974. Temperature, humidity, and host: effect on rate of search of *Trichogramma evanescens* and *T. minutum* auctt.(not Riley, 1871). *Annals of the Entomological Society of America*, 67: 706-708.
- Boldt, P.T., & Marston, N. 1974. Eggs of the greater wax moth as a host for *Trichogramma*. *Environmental Entomology*, 3: 545-548.
- Brown, F.A. & Webb, H.M. 1948. Temperature relations of an endogenous daily rhythmicity in a Fiddler crab, *Uca*. *Physiological Zoology*, 21: 371-381.
- Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M. & West, G.B. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85: 1771-1789.
- Buffenstein, R., Woodley, R., Thomadakis, C., Daly, T.J M. & Gray, D. A. 2001. Cold-induced changes in thyroid function in a poikilothermic mammal, the naked mole-rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 280: 149-155.
- Cabello, T. & Vargas, P. 1987. Influence of temperature on the biology of *Trichogramma pintoii* Voegelé(Hym: Trichogrammatidae). *GRAELLSIA.*, 43, 169-177.
- Carcaud, J., Roussel, E., Giurfa, M., & Sandoz, J. C. 2009. Odour aversion after olfactory conditioning of the sting extension reflex in honeybees. *Journal of Experimental Biology*, 212: 620-626.
- Charnov, E.L. 1976. Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, 9: 129-136.
- Chavez, B.R. 2003. *Effects of stress and relaxation on time perception*. Uniformed Services University of the Health Sciences, Bethesda, Maryland.
- Church, R. M. 1997. Timing and temporal search. In *Time and behavior: Psychological and neurobehavioral analyses* (Bradshaw, C.M. & Szabadi, E.). Elsevier, Amsterdam, Netherlands. pp. 41-78

- Clayton, N. S. & Dickinson, A. 1998. Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature*, 395: 272-274.
- Clayton, N. S., Russell, J. & Dickinson, A. 2009. Are animals stuck in time or are they chronosthetic creatures? *Topics in Cognitive Science*, 1: 59-71.
- Consoli, F.L., Parra, J.R.P. & Zucchi, R.A. 2010. Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma*. Springer, Dordrecht, Netherlands. pp 1-23.
- Craig, D.P.A., Vamon, C.A., Sokolowski, M.B.C., Wells, H. & Abramson, C.I. 2014. An assessment of fixed interval timing in free-flying honey bees (*Apis mellifera ligustica*): an analysis of individual performance. *PLoS ONE*, 9, 1-14.
- Dews, P.B. 1978. Studies on responding under fixed-interval schedules of reinforcement: II. The scalloped pattern of the cumulative record. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 29: 67-75.
- Feder, M.E. & Hofmann, G.E. 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annual Review of Physiology*, 61: 243-282.
- Feeney, M.C., Roberts, W.A. & Sherry, D.F. 2009. Memory for what, where, and when in the black-capped chickadee (*Poecile atricapillus*). *Animal Cognition*, 12: 767-777.
- Fitt, G.P., Zalucki, M.P. & Twine, P. 1989. Temporal and spatial patterns in pheromone-trap catches of *Helicoverpa* spp.(Lepidoptera: Noctuidae) in cotton-growing areas of Australia. *Bulletin of Entomological Research*, 79: 145-161.
- Flanders, S.E. 1935. Host influence on the profligacy and size of *Trichogramma*. *Pan Pacific Entomologist*, 11: 175-177.
- Flanders, S.E. 1937. Habitat selection by *Trichogramma*. *Annals of the Entomological Society of America*, 30: 208-210.
- Frisch, B. & Aschoff, J. 1987. Circadian rhythms in honeybees: entrainment by feeding cycles. *Physiological Entomology*, 12: 41-49.
- Furlong, M. J., Wright, D. J. & Dossall, L. M. (2013). Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annual Review of Entomology*, 58: 517-541.
- Gallistel, C.R. 1990. The organization of learning. The MIT Press, Cambridge, MA, USA.

- Gibbon, J. 1977. Scalar expectancy theory and Weber's law in animal timing. *Psychological Review*, 84: 279-325.
- Gibbon, J., Church, R. M. & Meck, W. H. 1984. Scalar timing in memory. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 423: 52-77.
- Godin, C. & Boivin, G. 2000. Effects of host age on parasitism and progeny allocation in Trichogrammatidae. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97: 149-160.
- Grossman, K.E. 1973. Continuous, fixed-ratio, and fixed-interval reinforcement in honey bees. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 20: 105-109.
- Hansen, S.W., Jensen, M.B., Pedersen, L.J., Munksgaard, L., Ladewig, J. & Matthews, L. 2002. The type of operant response affects the slope of the demand curve for food in mink. *Applied Animal Behaviour Science*, 76: 327-338.
- Harrison, J.M. 1986. Caste-specific changes in honeybee flight capacity. *Physiological Zoology*, 59: 175-187.
- Hastings, J.W. & Sweeney, B.M. 1957. On the mechanism of temperature independence in a biological clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 43: 804-811.
- Hastings, J.W. & Schweiger, H.G. 1976. Molecular basis of circadian rhythms. In: Dahlem Workshop on the Molecular Basis of Circadian Rhythms, Berlin, Germany.
- Hoang, L.K. & Takasu, K. 2005. *Helicoverpa armigera* as an alternative host of the larval parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Applied Entomology and Zoology*, 40: 679-686.
- Hochachka, P.W. & Somero, G.N. 2002. Biochemical adaptation. Mechanisms and processes in physiological evolution. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Holm, L., Jensen, M.B. & Jeppesen, L.L. 2002. Calves' motivation for access to two different types of social contact measured by operant conditioning. *Applied Animal Behaviour Science*, 79: 175-194.
- Illius, A.W. & Fryxell, J.M. 2002. Methodological problems with estimating patch depression during resource depletion. *Oikos*, 98: 558-559.
- Jones, E.I. & Dornhaus, A. 2011. Predation risk makes bees reject rewarding flowers and reduce foraging activity. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65: 1505-1511.
- Jozet-Alves, C., Bertin, M. & Clayton, N.S. 2013. Evidence of episodic-like memory in cuttlefish. *Current Biology*, 23: 1033-1035.

- Kacelnik, A. & Todd, I.A. 1992. Psychological mechanisms and the marginal value theorem: effect of variability in travel time on patch exploitation. *Animal Behaviour*, 43: 313-322.
- Kacelnik, A. & Brunner, D. 2002. Timing and foraging: Gibbon's scalar expectancy theory and optimal patch exploitation. *Learning and Motivation*, 33: 177-195.
- Kaiser, W. & Steiner-Kaiser, J. 1983. Neuronal correlates of sleep, wakefulness and arousal in a diurnal insect. *Nature*, 301: 707-709.
- Kevan, P.G. & Baker, H.G. 1983. Insects as flower visitors and pollinators. *Annual Review of Entomology*, 28: 407-453.
- Killeen, P.R. & Fetterman, J.G. 1988. A behavioral theory of timing. *Psychological Review*, 95: 274-295.
- Krachun, C., Rushen, J. & de Passillé, A.M. 2010. Play behaviour in dairy calves is reduced by weaning and by a low energy intake. *Applied Animal Behaviour Science*, 122: 71-76.
- Lagadic, H. & Faure, J.M. 1987. Preferences of domestic hens for cage size and floor types as measured by operant conditioning. *Applied Animal Behaviour Science*, 19: 147-155.
- Leach, I.M., Pannebakker, B.A., Schneider, M.V., Driessen, G., van de Zande, L. & Beukeboom, L.W. 2009. Thelytoky in Hymenoptera with *Venturia canescens* and *Leptopilina clavipes* as case studies. In: Lost sex: The evolutionary biology of parthenogenesis (Schön, I., Martens, K. & van Dijk, P.). Springer, Dordrecht, Netherlands. pp. 347-375
- Leatemia, J.A., Laing, J.E. & Corrigan, J.E. 1995. Effects of adult nutrition on longevity, fecundity, and offspring sex ratio of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *The Canadian Entomologist*, 127: 245-254.
- Lejeune, H. & Wearden, J.H. 1991. The comparative psychology of fixed-interval responding: some quantitative analyses. *Learning and Motivation*, 22: 84-111.
- Lejeune, H. & Wearden, J. H. 2006. Scalar properties in animal timing: Conformity and violations. *The Quarterly journal of experimental psychology*, 59: 1875-1908.
- Lewis, T. 1969. The diversity of the insect fauna in a hedgerow and neighbouring fields. *Journal of Applied Ecology*, 6: 453-458.
- Lewis, W.J. & Tumlinson, J.H. 1988. Host detection by chemically mediated associative learning in a parasitic wasp. *Nature*, 331: 257-259.

- Liu, Y.-Q., Bernstein, C. and Thiel, A. 2009. Travel duration, energetic expenditure, and patch exploitation in the parasitic wasp *Venturia canescens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63: 1459-1469.
- Louâpre, P. 2011. De la plante à l'homme via les guêpes parasitoïdes: comment décider sans calculer? Thèse doctorale, Université Rennes 1, France.
- Lowe, C.F., Harzem, P. & Spencer, P.T. 1979. Temporal control of behavior and the power law. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 31: 333-343.
- MacArthur, R.H. & Pianka, E.R. 1966. On optimal use of a patchy environment. *American Naturalist*, 100: 603-609.
- Machado, A. 1997. Learning the temporal dynamics of behavior. *Psychological Review*, 104: 241-265.
- Makatiani, J.K., Bruce, A.Y., Schulthess, F. & Takasu, K. 2013. Reproductive strategies of the larval parasitoid *Microplitis croceipes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 148: 223-233.
- Makatiani, J.K., Le, H.K., Olson, D.M., Wäckers, F.L. & Takasu, K. 2014. An acquired distaste: sugar discrimination by the larval parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) is affected by prior sugar exposure. *Journal of Experimental Biology*, 217: 1692-1700.
- Maricq, A.V., Roberts, S. & Church, R.M. 1981. Methamphetamine and time estimation. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 7: 18-30.
- Marston, N. & Ertle, L.R. 1973. Host influence on the bionomics of *Trichogramma minutum*. *Annals of the Entomological Society of America*, 66: 1155-1162.
- Martel, V., Wajnberg, E. & Boivin, G. 2008. Patch time allocation in male parasitoids. *Ecological Entomology*, 33: 608-613.
- Mason, G.J. & Latham, N.R. 2004. Can't stop, won't stop: is stereotypy a reliable animal welfare indicator? *Animal Welfare*, 13: 57-69.
- Meck, W.H. & Church, R.M. 1987a. Cholinergic modulation of the content of temporal memory. *Behavioral Neuroscience*, 101: 457-464.
- Meck, W.H. & Church, R.M. 1987b. Nutrients that modify the speed of internal clock and memory storage processes. *Behavioral Neuroscience*, 101: 465-475.

- Mendl, M., Burman, O.H., Parker, R.M. & Paul, E.S. 2009. Cognitive bias as an indicator of animal emotion and welfare: emerging evidence and underlying mechanisms. *Applied Animal Behaviour Science*, 118: 161-181.
- Menzel, R., Greggers, U. & Hammer, M. 1993. Functional organization of appetitive learning and memory in a generalist pollinator, the honey bee. In: Insect learning (Papaj, D. & Lewis, A.C.). Chapman and Hall, New York, USA. pp. 79-125
- Menzel, R. 1999. Memory dynamics in the honeybee. *Journal of Comparative Physiology A*, 185: 323-340.
- Nasreen, A. & Mustafa, G. 2000. Biology of *Helicoverpa armigera* (Hubner) reared in laboratory on natural diet. *Pakistan journal of Biological Sciences*, 3: 1668-1669.
- Ornstein, R.E. 1969. On the experience of time. London: Penguin.
- Owen, A.K., George, J., Pinto, J.D. & Heraty, J.M. 2007. A molecular phylogeny of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with an evaluation of the utility of their male genitalia for higher level classification. *Systematic Entomology*, 32: 227-251.
- Pahl, M., Zhu, H., Pix, W., Tautz, J. & Zhang, S. 2007. Circadian timed episodic-like memory—a bee knows what to do when, and also where. *The Journal of Experimental Biology*, 210: 3559-3567.
- Pak, G.A., Buis, H.C.E.M., Heck, I.C.C. & Hermans, M.L.G. 1986. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: Host-age selection. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 40: 247-258.
- Penton-Voak, I.S., Edwards, H., Percival, A. & Wearden, J.H. 1996. Speeding up an internal clock in humans? Effects of click trains on subjective duration. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 22: 307-320.
- Pinto, J.D. & Oatman, E.R. 1988. *Trichogramma* species in a chaparral community of southern California, with a description of a new species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pan-Pacific Entomologist*, 64: 391-402.
- Pinto, J. & Stouthamer, R. 1994 Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. In: Biological control with egg parasitoids (Wajnberg, E. & Hassan, S. A.). CAB International, Wallingford, UK. pp. 1–36
- Pinto, J.D., Kazmer, D.J., Platner, G.R. & Sassaman, C.A. 1992. Taxonomy of the *Trichogramma minutum* complex (Hymenoptera: Trichogrammatidae): allozymic

- variation and its relationship to reproductive and geographic data. *Annals of the Entomological Society of America*, 85: 413-422.
- Pinto, J.D., Platner, G.R. & Stouthamer, R. 2003. The systematics of the *Trichogramma minutum* species complex (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a group of important North American biological control agents: the evidence from reproductive compatibility and allozymes. *Biological Control*, 27: 167-180.
- Pinto, J.D. 2006. A review of the New World genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). *Journal of Hymenoptera Research*, 15: 38-163.
- Polaszek, A. 2010. Biodiversity and host associations of *Trichogramma* in Eurasia. In: Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma* (Consoli, F.L., Parr, A.J., Zucchi, R.). Springer, Dordrecht, Netherlands. pp. 237–266
- Pompanon, F., Fouillet, P., Allemand, R. & Bouletreau, M. 1993. Organisation temporelle de l'activité locomotrice chez les Trichogrammes (Hym. Trichogrammatidae): variabilité et relation avec l'efficacité du parasitisme. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 118: 141-148.
- Pompanon, F., Fouillet, P. & Bouletréau, M. 1995. Emergence rhythms and protandry in relation to daily patterns of locomotor activity in *Trichogramma* species. *Evolutionary Ecology*, 9: 467-477.
- Pyke, G.H., Pulliam, H.R. & Charnov, E.L. 1977. Optimal foraging: a selective review of theory and tests. *Quarterly review of Biology*, 52: 137-154.
- Querino, R.B., Zucchi, R. & Pinto, D.M. 2010. Systematics of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a focus on the genera attacking Lepidoptera. In: Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma* (Consoli, F.L., Parr, A.J., Zucchi, R.). Springer, Dordrecht, Netherlands. pp. 191–218
- Quicke, D.L.J. 1997. Parasitic wasps. Chapman & Hall, London, UK
- Richardson, C.H. 1926. A physiological study of the growth of Mediterranean flour moth (*Ephestia kuehniella* Zeller) in wheat flour. *Journal of Agricultural Research*, 32: 895-929
- Richelle, M. & Lejeune, H. 1980. Régulation temporelle du comportement et anticipation. In : Anticipation et comportement. Éditions du CNRS, Paris, France. pp. 141-158

- Robert, S., Rushen, J. & Farmer, C. 1997. Both energy content and bulk of food affect stereotypic behaviour, heart rate and feeding motivation of female pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, 54: 161-171.
- Roberts, S. 1981. Isolation of an internal clock. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 7: 242-268.
- Salt, G. 1935. Experimental Studies in Insect Parasitism. III.--Host Selection. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 117: 413-435.
- Salt, G. 1940. Experimental studies in insect parasitism. VII. The effect of different hosts on the parasite *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London A*, 15: 81-124.
- Schmidt, J.M. & Smith, J.J.B. 1987. Short interval time measurement by a parasitoid wasp. *Science*, 237, 903-905.
- Schmidt, J.M. & Smith, J.J.B. 1989. Host examination walk and oviposition site selection of *Trichogramma minutum*: Studies on spherical hosts. *Journal of Insect Behavior*, 2: 143-171.
- Schmidt, J.M. & Pak, G.A. 1991. The effect of temperature on progeny allocation and short interval timing in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology*, 16: 345-353.
- Schneider, B.A. 1969. A two-state analysis of fixed-interval responding in the pigeon. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 12: 677-687.
- Seligman, M.E. & Csikszentmihalyi, M. 2014. *Positive psychology: An introduction*. Springer, Dordrecht, Netherlands. pp. 279-298
- Shorey, H.H. 1963. The biology of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). II. Factors affecting adult fecundity and longevity. *Annals of the Entomological Society of America*, 56: 476-480.
- Silva, I.M., & Stouthamer, R. 1999. Do sympatric *Trichogramma* species parasitize the pest insect *Helicoverpa armigera* and the beneficial insect *Chrysoperla carnea* in different proportions? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 92: 101-107.
- Skinner, B.F. 1938. *The behavior of organisms: an experimental analysis*. Appleton-Century, New York, USA.



- Smith, S.M., Wallace, D.R., Howse, G. & Meating, J. 1990. Suppression of spruce budworm populations by *Trichogramma minutum* Riley, 1982-1986. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 53: 56-81.
- Somero, G.N. 1995. Proteins and temperature. *Annual review of physiology*, 57: 43-68.
- Spangler, H.G. 1972. Daily activity rhythms of individual worker and drone honey bees. *Annals of the Entomological Society of America*, 65: 1073-1076.
- Spangler, H.G. 1973. Role of light in altering the circadian oscillations of the honey bee. *Annals of the Entomological Society of America*, 66: 449-451.
- Spetch, M.L. & Rusak, B. 1989. Pigeons' memory for event duration: Intertrial interval and delay effects. *Animal Learning & Behavior*, 17: 147-156.
- Staddon, J.E.R., Chelaru, I.M. & Higa, J.J. 2002. A tuned-trace theory of interval-timing dynamics. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 77: 105-124.
- Stephens, D.W. & Krebs, J.R. 1986. Foraging theory. Princeton University Press.
- Sweeney, B.M. 1976. Circadian rhythms in corals, particularly Fungiidae. *The Biological Bulletin*, 151: 236-246.
- Tabone, E., Pintureau, B., Pizzol, J., Michel, F. & Barnay, O. 1999. Aptitude de 17 souches de *Trichogrammes* a parasiter la teigne des cruciferes *Plutella xylostella* L. en laboratoire (Lep.: Yponomeutidae). *Annales de la Societe Entomologique de France*, 35: 427-433.
- Takasu, K. & Lewis, W.J. 1993. Host-and food-foraging of the parasitoid *Microplitis croceipes*: learning and physiological state effects. *Biological Control*, 3: 70-74.
- Takasu, K. & Lewis, W.J. 1996. The role of learning in adult food location by the larval parasitoid, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, 9: 265-281.
- Thor, D.H. 1962. Diurnal variability in time estimation. *Perceptual and Motor Skills*, 15: 451-454.
- Todd, I.A. & Kacelnik, A. 1993. Psychological mechanisms and the marginal value theorem: dynamics of scalar memory of travel time. *Animal Behaviour*, 46: 765-775.
- Van Hezewijk, B.H., Bouchier, R.S. & Smith, S.M. 2000. Searching speed of *Trichogramma minutum* and its potential as a measure of parasitoid quality. *Biological Control*, 17: 139-146.

- Vance, J.T., Williams, J.B., Elekonich, M.M. & Roberts, S.P. 2009. The effects of age and behavioral development on honey bee (*Apis mellifera*) flight performance. *Journal of Experimental Biology*, 212: 2604-2611.
- Vergoz, V., Roussel, E., Sandoz, J. C. & Giurfa, M. 2007. Aversive learning in honeybees revealed by the olfactory conditioning of the sting extension reflex. *PLoS One*, 2: e288.
- Wagner, A.E., Van Nest, B.N., Hobbs, C.N. & Moore, D. 2013. Persistence, reticence and the management of multiple time memories by forager honey bees. *The Journal of experimental biology*, 216: 1131-1141.
- Wajnberg, E., Fauvergue, X. & Pons, O. 2000. Patch leaving decision rules and the Marginal Value Theorem: an experimental analysis and a simulation model. *Behavioral Ecology*, 11: 577-586.
- Wajnberg, E. 2006. Time allocation strategies in insect parasitoids: from ultimate predictions to proximate behavioral mechanisms. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60: 589-611.
- Wearden, J.H. & Penton-Voak, I.S. 1995. Feeling the heat: body temperature and the rate of subjective time, revisited. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B: Comparative and Physiological Psychology*, 48: 129-141.
- Weary, D.M., Huzzey, J.M. & Von Keyserlingk, M.A.G. 2009. Board-invited review: Using behavior to predict and identify ill health in animals. *Journal of Animal Science*, 87: 770-777.
- Williams, J.L., Friend, T.H., Nevill, C.H. & Archer, G. 2004. The efficacy of a secondary reinforcer (clicker) during acquisition and extinction of an operant task in horses. *Applied Animal Behaviour Science*, 88: 331-341.
- Yeates, J.W. & Main, D.C.J. 2008. Assessment of positive welfare: a review. *The Veterinary Journal*, 175: 293-300.
- Zalucki, M.P., Daghish, G., Firempong, S. & Twine, P. 1986. The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hubner) and *Heliothis punctigera* Wallengren (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia-what do we know. *Australian Journal of Zoology*, 34: 779-814.
- Zeiler, M.D. 1991. Ecological influences on timing. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 17: 13-25.

- Zhou, Z., Samarasinghe, D., Rains, S. & Olson, D.M. 2015. Computational modeling and experimental validation of odor detection behaviors of classically conditioned parasitic wasp, *Microplitis croceipes*. *Biotechnology Progress*, 31: 596-606.
- Zinkivskay, A., Nazir, F. & Smulders, T. V. 2009. What–where–when memory in magpies (*Pica pica*). *Animal Cognition*, 12: 119-125.

## **Appendice I: Autre activités et accomplissements durant le Ph.D.**

*Article publié dans un journal scientifique revue par les paires*

Abram, P.K., **Parent, J.-P.**, Brodeur, J., Boivin, G. 2015. Size-induced reaction norms in a parasitoid wasp: an examination of life history and behavioural traits. *Biological Journal of the Linnean Society*. DOI: 10.1111/bij.12658

*Présentations orales at des conférences scientifiques (\* = présentateur)*

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin G. 2015. Parasitoids standing the test of time. *Joint Annual Meeting of the Entomological Society of Canada and Entomological Society of Quebec*, Montréal, Canada, 8-11 Novembre.

- **Présentateur invité pour le symposium des étudiants gradués** (processus d'application compétitif)

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin G. 2015. Thermal dilation of time: Impact of temperature on time perception in a parasitoid. *Joint Annual Meeting of the Entomological Society of Canada and Entomological Society of Quebec*, Montréal, Canada, 8-11 Novembre.

- **2<sup>e</sup> place meilleure présentation étudiante - lutte biologique**

**Parent, J.-P.\***, Takasu, K., Brodeur, J. and Boivin, G. 2015. Time-based decision making in a parasitoid using associative learning. *4<sup>th</sup> International Entomophagous Insects Conference*, Malaga, Spain, 4-9 Octobre.

**Parent, J.-P.\***, Takasu, K., Brodeur, J. and Boivin, G. 2015. The fleeting fragrance of time. *Ecological Society of America*, Baltimore, USA, 9-14 Août.

**Parent, J.-P.\***, Takasu, K., Brodeur, J. and Boivin, G. 2015. Le parfum du temps qui passe chez une guêpe parasitoïde. *Symposium du département de sciences biologique de l'Université de Montréal*, Montréal, Canada, 11-12 Mars.

**Parent, J.-P.\***, Takasu, K., Brodeur, J. and Boivin, G. 2014. Le parfum du temps qui passe chez une guêpe parasitoïde. *39<sup>e</sup> congrès de la Société Québécoise pour l'Étude Biologique du Comportement*, Montréal, Canada, 7-9 Novembre.

**Parent, J.-P.\***, Takasu, K., Brodeur, J. and Boivin, G. 2014. Le parfum du temps qui passe chez une guêpe parasitoïde. *Société d'entomologie du Québec*, Wendake, Canada, 6-7 Novembre.

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin, G. 2014. Les guêpes parasitoïdes perçoivent-elles le temps? *Symposium du département de sciences biologiques de l'Université de Montréal*, Montréal, Canada, 26-27 Mars.

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin, G. 2013. Les guêpes parasitoïdes perçoivent-elles le temps? *Société d'entomologie du Québec*, Sainte-Adèle, Canada, 21-22 Novembre.

- **2<sup>e</sup> place meilleure présentation étudiante**

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin, G. 2013. Can parasitic wasps perceive time? *38<sup>e</sup> congrès de la Société Québécoise pour l'Étude Biologique du Comportement*, Montréal, Canada, 9-11 Novembre.

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin, G. 2013. Can parasitic wasps perceive time? *Entomological Society of Canada*, Guelph, Canada, 20-23 Octobre.

*Poster à des conférences scientifiques (\*=présentateur)*

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin, G. 2013. Is parasitic wasp walking speed size-dependant? *Société d'entomologie du Québec*, Sainte-Adèle, Canada, 21-22 Novembre.

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin, G. 2013. Is parasitic wasp walking speed size-dependant? *Entomological Society of Canada*, Guelph, Canada, 20-23 Octobre.

**Parent, J.-P.\***, Brodeur, J. and Boivin, G. 2013. Is parasitic wasp walking speed size-dependant? *3<sup>rd</sup> International Entomophagous Insects Conference*, Orford, Canada, 2-6 Juin.

*Présentation à l'industrie*

**Parent, J.-P.**, Brodeur, J. and Boivin G. 2015. Thermal dilation of time: Impact of temperature on time perception in a parasitoid. Fujian Academy of Agricultural Sciences and Fujian Yanxuan Biocontrol Technology Company, Fuzhou, China, 24 September.

**Parent, J.-P.**, Takasu, K., Brodeur, J. and Boivin, G. 2014. The fleeting fragrance of time. Fujian Academy of Agricultural Sciences and Fujian Yanxuan Biocontrol Technology Company, Fuzhou, China, 24 November.

*Bourses***Bourse d'études supérieures du CRSNG - doctorat** **2013-2015**

Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie (CRSNG)

Montant: \$56,000.00 CAD

**Prix d'excellence** **2015**

Centre de la science de la biodiversité du Québec (CSBQ)

Montant: \$2,000.00 CAD

**Bourse Jacques-Rousseau** **2015**

Institut de Recherche en Biologie Végétale, Université de Montréal

Montant: \$600.00 CAD

**Bourse Jacques-Rousseau** **2014**

Institut de Recherche en Biologie Végétale, Université de Montréal

Montant: \$1,100.00 CAD

**Bourse Jacques-Rousseau** **2013**

Institut de Recherche en Biologie Végétale, Université de Montréal

Montant: \$550.00 CAD