

**THESE DE DOCTORAT DE L'ETABLISSEMENT UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE
PREPAREE À BIOGÉOSCIENCES (UMR CNRS 6282)**

Ecole doctorale n°554
Environnement - Santé

Doctorat de sciences de la vie, spécialité Écologie évolutive

Par
Agathe CROSLAND

**Lien entre la croissance et
les sénescences reproductive, actuarielle et immunitaire
chez un insecte**



Thèse présentée et soutenue à Dijon, le 7 mars 2024

Composition du Jury :

Beltran-Bech, Sophie
Crisuolo, François
Lemaître, Jean-François
Faivre, Bruno
Moret, Yannick
Rigaud, Thierry

Maîtresse de conférences HDR – Université de Poitiers
Directeur de recherche CNRS – Université de Strasbourg
Directeur de recherche CNRS – Université Claude Bernard Lyon 1
Professeur – Université Bourgogne Franche-Comté
Directeur de recherche CNRS – Université Bourgogne Franche-Comté
Directeur de recherche CNRS – Université Bourgogne Franche-Comté

Rapporteuse
Rapporteur
Examineur
Président du jury
Directeur de thèse
Codirecteur de thèse

Remerciements

Je suis absolument ravie d'enfin pouvoir rédiger cette partie. Evidemment parce que c'est la dernière chose que je fais dans la rédaction de cette thèse... mais aussi parce que j'ai rencontré, côtoyé, parfois seulement croisé, tellement de gens qui ont fait de ces trois ans (et demi) une période fantastique d'un point de vue professionnel et humain. J'espère n'oublier personne et, il y a des chances pour que si vous lisez ces remerciements, vous méritez d'être dedans, donc MERCI. (Et si vous cherchez juste des infos sur la sénescence ou *Tenebrio molitor*, la table des matières est juste après, bonne lecture.)

Je voudrais bien sûr commencer par mes encadrants, Yannick et Thierry. Merci de m'avoir acceptée pour cette thèse. Merci d'avoir toujours été disponibles, tout en me laissant de l'autonomie. Merci de m'avoir encouragée dans les moments de mou. Merci pour les réunions de couloir qui sont initialement censées être de petites discussions et qui durent finalement trop longtemps, mais qui sont toujours productives. Merci pour tout ce que vous m'avez appris aussi bien pour la recherche que sur le plan humain. Merci pour les discussions parfois pas du tout sur le travail qu'on a pu avoir pendant qu'on s'occupait des bêtes en bas. J'ai des souvenirs de Noël au laboratoire qui ne seraient pas aussi bons si vous n'aviez pas été là. C'est dur de vous faire des remerciements séparés tant vous avez toujours tous les deux été là au cours de cette thèse. Mais merci Yannick d'être aussi enthousiaste sur mes résultats quand, alors que j'ai le nez dessous, je n'en peux plus. Ça m'a relancée plus d'une fois dans mes analyses ou la rédaction. Thierry, je n'aurais qu'une chose à dire, je ne regretterai jamais d'avoir écouté le conseil de Denis : « si tu as l'occasion de faire une thèse avec Thierry Rigaud, fonce ! ». Je conseillerais aussi à n'importe qui qui me le demanderait de faire une thèse ou de travailler en général avec vous. Vous êtes des chercheurs fantastiques mais aussi et surtout des personnes fantastiques.

Je remercie les membres de mon jury Jean-François Lemaître, Bruno Faivre, Sophie Beltran-Bech et François Criscuolo qui ont accepté d'évaluer mon travail. Et je tiens à mettre une emphase sur ces remerciements pour les deux derniers membres cités qui sont le rapporteur et la rapportrice de cette thèse (je sais qu'il y a beaucoup de pages... mais j'ai écrit gros, il y a beaucoup de figures et des éléments de matériel et méthodes qui se répètent).

Je remercie les membres de mon comité de thèse Jean-François et Gabriele pour leurs précieux conseils et l'occasion que ce rendez-vous annuel m'a offert de faire le point. C'était des moments stressants, mais toujours enrichissants.

Un immense merci à tous mes collègues de Biogéosciences, surtout l'aile Nord (j'ai moins eu l'occasion de croiser ceux du Sud, vous êtes loin... et je ne parle même pas des climatos !). Pour les remerciements particuliers : merci Nicole, tu es souvent la première personne que je croise le matin, donc la première à qui je dis bonjour, et ta bonne humeur est toujours appréciée quand il a fallu se lever pour venir travailler. Merci à Maria et à Seb pour leurs conseils et appui techniques. Merci Isabelle et au pôle administration d'avoir géré toutes sortes d'éléments dans lesquels je me serais noyée sans vous.

En remerciant mes encadrants, je n'ai remercié qu'une partie de l'équipe Tenebrion. Aude, tu n'as pas seulement été une aide technique sans qui je n'aurais rien pu faire. Tu as aussi été ma camarade de discussion pendant des heures au laboratoire. Les comptages d'œufs et autres manipulations parfois monotones sont devenues un plaisir quand je savais qu'on allait pouvoir écouter des podcasts ou discuter (souvent les deux). J'ai tellement aimé parler de chiens avec toi, mais aussi de plein d'autres choses. Charlène, je ne sais pas ce que j'aurais fait sans toi. Tu as géré ! Merci pour toutes ses mesures immunitaires. Merci aussi pour tout ce qui ne relevait pas du travail : les verres, le roller, les épisodes de Sombres machinations (désolée que tu sois devenue accro comme moi). Je ne sais pas si tu sais ce que tu veux faire après, mais je te souhaite le meilleur. Alexandre, puisse ta fin de thèse bien se passer ! Mazarine, je tiens à te remercier et te féliciter pour ton travail pendant ton stage.

Pour m'avoir offert l'occasion de sortir un peu du labo pour parler de mon travail, je remercie les membres de l'Expérimentarium, Coralie, Ju, Sophie et tous les autres organisateurs et organisatrices ou camarades jeunes chercheurs et chercheuses que j'ai pu croiser.

A mes camarades de galère, un immense merci. Louis, merci d'être toi, tu es l'une des personnes les plus bienveillante que je connaisse et je n'ai aucun doute sur le fait que ta simple présence a rendu l'atmosphère durant cette thèse plus bienveillante elle aussi (et plus bruyante aussi). Lilla, je t'inclue même si tu n'es pas (encore ?) une camarade de galère de thèse. Merci pour ton écoute, merci pour ton humour, merci pour les discussions jusqu'à 5h du matin. Gaëtan, tu ne passes pas toujours au bon moment dans les bureaux, mais c'est quand même toujours agréable de savoir que quelqu'un fait tout ce chemin pour venir nous voir. Camille que dire sinon que depuis que tu es arrivée je sais que j'ai toujours quelqu'un avec qui rire ou pleurer. Les détectives Marsouin et Marsot, pour toutes les sorties, les jeux de rôle ou autre (j'ai hâte de faire cette soirée glace et film romantique). Merci d'être le bureau d'accueil pour les mini-pauses qui se transforment en pause trop longues. Merci au fond du couloir globalement, pour citer ceux pour qui ce n'est pas encore fait : Jeanne (la petite nouvelle), Léna, Célia, Claudia, Noémie, Yann, Tessie, William, Quentin. Aux autres qui sont ou étaient plus loin : Robin, Ophélie, Alice, Erwan, Gabrielle, Camille-Sophie (la suisse t'a reprise mais tu restes dans nos cœurs), Chris, Julie, Sarah, Julien, Pierre et tous ceux que j'aurais pu oublier !

Une pensée particulière va à celle avec qui j'ai commencé ma thèse et même avant ça, puisque je l'ai rencontrée lors du concours de l'école doctorale. Alexandrine, merci d'être mon amie. Je sais que les prochains mois ne seront pas faciles, mais ne doute pas. Tu vas y arriver !

A ma famille, qui ne m'a pas beaucoup vue pendant cette thèse, j'espère que vous ne m'en tiendrez pas rigueur. Je tiens à remercier particulièrement ma mère, mon père qui m'ont toujours encouragée et soutenue. Je vous remercie tous et j'ai une pensée pour papy, j'aurais aimé qu'il puisse voir la fin de ce travail.

Laure, Céline et Héloïse, merci pour les weekends entiers à jouer à des jeux de société infinis. Merci d'être mes amies malgré la distance. Mathilde, depuis le lycée, tu n'as jamais cessé d'être là pour moi.

Même si c'est un peu bizarre, je remercie Wally mon lapin, mon petit agent du chaos, qui est un soutien de tous les jours (surement, en grande partie, parce que je lui donne à manger).

Enfin, Luc, je ne saurais assez te remercier pour les derniers mois. Je pense que sans toi, je serais devenue folle. Merci pour les fous rires, merci pour le soutien, merci pour le manger, merci pour ta bienveillance, merci de me supporter, pas merci pour les après-midi de frustration où j'aurais aimé jouer à la console aussi ! merci pour ton humour. J'espère que l'avenir nous réserve beaucoup d'autres bonnes choses ensemble.

Table des matières

Introduction générale	9
Préambule.....	10
I – La sénescence	11
A – Un phénomène connu de tous et pourtant bien moins évident qu’il n’y paraît.....	11
1 – Une définition unique de la sénescence ?	11
2 – Un phénomène universel ?	13
B – Les origines évolutives de la sénescence	14
1 – La sénescence comme un produit de la sélection naturelle	14
2 – La diminution de la force de la sélection naturelle avec l’âge induit une opposition entre début et plus tard dans la vie, au profit du début de la vie	15
C – Support moléculaires à la sénescence	24
1 – Les mécanismes moléculaires génétiques du vieillissement	25
2 – La théorie radicalaire du vieillissement.....	27
II – Développement, croissance et sénescence	28
A – Un lien entre développement et/ou croissance et sénescence souvent théorisé... .	28
1 – Développement et croissance	28
2 – Développement, croissance et théories de la sénescence	30
B - ... avec quelques preuves... ..	32
1 – Des tendances interspécifiques fortes	32
2 – Quelques preuves intraspécifiques	32
C - ... et difficile à mettre en évidence	41
III – <i>Tenebrio molitor</i> : un bon modèle d’étude pour la sénescence	42
A – Un insecte passé de nuisible à économiquement intéressant	42
B – Cycle de vie.....	43

C – Une immunité bien connue.....	44
D – Connaissances sur la sénescence de <i>T. molitor</i>	46
IV – But et organisation de la thèse	47
Partie 1 : Influence de l'environnement larvaire sur la vitesse de développement et de croissance. Conséquences sur les sénescences actuarielle, reproductive et immunitaire chez <i>Tenebrio molitor</i>	52
I – Introduction	53
II – Matériel et méthodes	58
A – Origine des individus et conditions de développement larvaire	58
B – Mesures au cours de la vie des individus	60
C – Reproduction précoce ou tardive	60
D – Mesures immunitaires	63
1 – Challenge immunitaire.....	64
2 – Prélèvements d’hémolymphe et mesures immunitaires.....	64
III – Chapitre 1 : Influence de l’environnement larvaire sur la croissance et la sénescence reproductive	68
A – “Born with a silver spoon in the mouth has bad sides too”: experimentally increasing growth rate enhances individual quality but accelerates reproductive senescence in females of the mealworm beetle, <i>Tenebrio molitor</i>	69
1 – Abstract.....	69
2 – Introduction	70
3 - Material and Methods.....	73
4 – Results.....	77
5 – Discussion	84
6 – Conclusions.....	88
B – Analyses complémentaires : influence de l’humidité environnementale larvaire sur la croissance et la sénescence reproductive chez <i>T. molitor</i>	89

1 – Matériel et méthodes	89
2 – Résultats	91
3 – Discussion	94
C – Influence de la température larvaire sur la croissance et la sénescence reproductive	97
2 – Matériel et méthodes	97
3 – Résultats	100
4 – Discussion	109
D – Discussion du Chapitre.....	113
1 – Condition environnementale larvaire et vitesse de développement et de croissance	113
2 – Certaines femelles peuvent conjuguer une forte fécondité et une longue vie adulte	116
3 – Les femelles de <i>T. molitor</i> ayant grandi le plus rapidement sont celles qui présentent la sénescence reproductive relative la plus marquée	117
Conclusion	119
IV – Chapitre 2 : Influence de l’environnement larvaire sur la croissance et la sénescence actuarielle.....	121
A – Introduction	121
B – Matériel et méthodes	122
1 – Origine des individus et conditions larvaires	122
2 – Analyses	122
C – Résultats	126
1 – Influence de la température et l’humidité environnementale larvaire sur le développement, la croissance et les caractéristiques phénotypiques des insectes...	126
2 – Sénescence actuarielle	128
D – Discussion.....	134

1 – Conditions environnementales larvaires, vitesse de développement et effets confondants.....	134
2 – Aucune diminution de longévité n’a été observée quand le développement est plus court ou la croissance plus élevée	136
Conclusion	138
V – Chapitre 3 : Growth and longevity modulation through larval environment mediate immunosenescence and immune strategy of <i>Tenebrio molitor</i>	139
Abstract	139
A – Background	140
B – Methods	143
1 – Insect cultures and experimental design	143
2 – Bacterial cultures for the immune challenge	145
3 – Hemolymph collection and immune measures	145
4 – Statistical analysis	147
C – Results	149
1 – Growth duration, pupal mass and adult survival under different temperature and relative humidity conditions at the larval stage.....	149
2 – Principal component analyses to summarize immune measures.....	151
3 – Influence of growth duration and longevity on cellular defenses (PC1) through larval temperature modification	153
4 – Influence of growth duration and longevity on proPO defenses (PC2) through larval temperature modification	154
5 – Influence of growth duration and longevity on antibacterial defense (PC3) through larval temperature modification.....	155
6 – Influence of growth duration and longevity on cellular defenses (PC1) through larval relative humidity modification.....	157
7 – Influence of growth duration and longevity on proPO defenses (PC2) through larval relative humidity modification.....	158

8 – Influence of growth duration and longevity on antibacterial defense (PC3) through larval relative humidity modification	158
D – Discussion.....	160
1 – Cellular defenses were modulated by growth duration and age.....	162
2 – proPO defenses were modulated by growth duration but not by ageing	163
3 – Inducible antibacterial defense is driven by strong interactions between ageing and growth duration or adult longevity.....	163
Conclusions.....	166
VI – Conclusion de la Partie 1	167
Partie 2 : Sénescences reproductive et actuarielle de <i>Tenebrio molitor</i> issus de lignées consanguines présentant des niveaux différents d’investissements dans la croissance larvaire	171
I – Introduction	172
II – Matériel et méthodes	174
A – Origine des insectes et préparation de l’expérience	174
B – Mesures au cours de la vie des individus.....	175
C – Étude des reproductions précoces et tardives	177
D – Analyses statistiques.....	178
1 – Caractérisation des lignées et identification de lignées souffrant de dépression de consanguinité	178
2 – Effet du temps de développement et du taux de croissance sur la sénescence reproductive de <i>T. molitor</i>	180
3 – Effet du temps de développement et du taux de croissance sur la longévité et la survie au cours de la vie de <i>T. molitor</i>	181
4 – Héritabilité au sens large des différents traits d’histoire de vie des lignées consanguines de <i>T. molitor</i> et les corrélations génétiques entre ces traits.....	184
III – Résultats	186

A – Caractérisation des lignées consanguines de <i>Tenebrio molitor</i> et les lignées retenues pour les analyses	186
1 – Traits d’histoire de vie des lignées consanguines	186
2 – Identification de trois lignées souffrant d’une forte dépression de consanguinité	191
B – Sénescence reproductive et variation du développement.....	194
1 – Analyse avec valeurs individuelles	194
2 – Approche en considérant les moyennes des lignées	200
C – Sénescence actuarielle et variation du développement.....	204
1 – Effet du développement et de la croissance sur la longévité	204
2 – Effet du développement et de la croissance sur les probabilités de survie	206
2 – Paramètres de sénescence actuarielle à partir des mortalités âge-spécifiques ...	208
D – Héritabilité et corrélations génétiques des traits d’histoire de vie des lignées consanguines de <i>Tenebrio molitor</i>	212
IV – Discussion	215
A – Les lignées consanguines de <i>T. molitor</i> présentent des valeurs de traits d’histoire de vie différentes, et certaines souffrent de la consanguinité à divers niveaux	215
B – La sénescence reproductive des femelles de <i>T. molitor</i> issues des lignées consanguines dépend de leur temps de développement et de leur taux de croissance	216
1 – Une sénescence reproductive accrue survient lorsque le temps de développement diminue et/ou quand le taux de croissance augmente	216
2 – ... due à un surinvestissement des femelles « rapides » dans la reproduction précoce	218
3 - ... et qui pourrait être lié à une plus grande qualité de certaines femelles ou à la stratégie reproductive de l’espèce.	220
C – Les <i>T. molitor</i> s’étant développés ou ayant grandi le plus rapidement ont plus de chance de vivre plus vieux.....	221

D – Les patrons de sénescence actuarielle sont très variables selon les lignées, et leur relation avec les vitesses de développement et de croissance n’est pas linéaire.....	223
E – Que nous apprennent les corrélations génétiques entre traits d’histoire vie chez <i>T. molitor</i>	225
F – Limites et perspectives	228
Conclusion	230
Discussion générale	231
I – Spécificités des approches utilisées pour faire varier le temps de développement et le taux de croissance.....	233
A – Approche expérimentale : modification de l’environnement larvaire	233
B – Approche corrélative : lignées consanguines.....	234
C – Variation des temps de développement et taux de croissance de <i>T. molitor</i> en fonction des deux approches.....	235
II – Vitesse de développement/croissance et sénescence reproductive	238
A – La sénescence reproductive est plus forte chez les femelles avec des taux de croissance élevés.....	238
B – La sénescence reproductive s’explique en partie par un surinvestissement des femelles à croissance rapide lors de la première période de reproduction	241
D – Limites et perspectives	245
III – Vitesse de développement ou de croissance et sénescence actuarielle	246
A – <i>T. molitor</i> peut coupler de fortes durées de développement et de forts taux de croissance et une faible sénescence actuarielle	246
B – Limites et perspectives.....	248
IV – Investissement dans le développement et sénescence immunitaire	248
D – Limites et perspectives	250
Conclusion	251
Pour aller plus loin	252

Références.....	254
Table des figures et des tableaux	273
Annexes.....	278
Annexe 1 : Tableaux de sélection des modèles statistiques.....	279
Partie 1 – Chapitre 1.....	279
Partie 1 – Chapitre 2.....	284
Partie 1 – Chapitre 3.....	287
Partie 2 – Sénescence reproductrice et performances reproductrice précoces et tardives	295
Partie 2 – Sénescence actuarielle et longévité	298
Annexe 2 : Modélisation des taux de mortalité âge-spécifiques des <i>T. molitor</i> ayant grandi dans différentes conditions de température et d’humidité relative – Détermination du seuil à partir des points expérimentaux.....	300
Annexe 3 : Caractéristiques des individus (mâles et femelles) s’étant développés dans les trois conditions de température et les trois conditions d’humidité relative	302
Températures larvaires	302
Humidités relatives larvaires.....	304
Annexe 4 : Modélisation des taux de mortalité âge-spécifiques des <i>T. molitor</i> des lignées consanguines – Valeurs de a, b et S et Détermination du seuil à partir des points expérimentaux.....	307
Annexe 5 : Priming immunitaire chez un insecte : effet du temps de développement et de l’âge auquel le priming est effectué. Par Mazzarine Laboureau.	309

Introduction générale

Préambule

L'optimisation des traits d'histoire de vie est au cœur de l'écologie évolutive (Stearns, 2000, 1992). Cette optimisation passe généralement par des compromis (ou *trade-off* en anglais) d'allocation d'énergie et de ressources entre fonctions. C'est le cas, par exemple bien connu, du nombre de petits dans une portée en rapport à la taille de ces petits (Roff, 1993). Cette notion d'optimisation est donc à l'origine de la diversité des valeurs de traits observée dans le vivant, comme la durée de croissance, la taille, le nombre de reproduction et de petits, la longévité, etc. (Partridge et Barton, 1993). Si certaines stratégies d'optimisation sont aisées à appréhender, il y a un trait d'histoire de vie qui a longtemps mérité son qualificatif de « problème non résolu de la biologie »¹ (Medawar, 1952) : la **sénescence**.

La sénescence, dans sa définition la plus simple, est le déclin de l'organisme avec l'âge, menant à la mort. Bien que souvent considérée uniquement du point de vue du déclin reproductif (sénescence reproductive) et de la diminution de la probabilité de survie (sénescence actuarielle), elle concerne en fait toutes les fonctions de l'organisme et regroupe de nombreux mécanismes (Cohen, Legault et Fülöp, 2020). Comment ce trait, pourtant si peu avantageux de prime abord pour l'individu, a pu apparaître et se maintenir ?

Comme je vais le détailler dans cette partie introductive, cette question doit être abordée avec le concept de compromis, en y incluant une composante temporelle, puisque la résolution du paradoxe passe par le fait de considérer les « performances » d'un organisme au début de sa vie (notamment la croissance et/ou le développement et la reproduction), au détriment de ces performances en fin de vie (Haldane, 1941 ; Kirkwood et Austad, 2000 ; Kirkwood et Rose, 1991 ; Williams, 1957). Si les compromis entre la reproduction au début de la vie adulte et la sénescence ont été énormément étudiés au cours du dernier siècle, ceux considérant la croissance sont plus rares (Gaillard et Lemaître, 2017), bien qu'ayant connu un regain d'intérêt ces dernières années. Cette rareté relative tient probablement à la difficulté de modifier sans biais le développement d'un organisme (Metcalfé et Monaghan, 2003).

Dans cette thèse, je m'intéresserai à ces compromis entre développement ou croissance et sénescence, sur trois de ses aspects : la sénescence reproductive, la sénescence actuarielle et

¹ "An unsolved problem of biology" (Medawar, 1952)

la sénescence immunitaire. Je chercherai à remettre en perspectives les relations ou l'absence de relation entre sénescence et croissance ou développement avec les théories évolutives de la sénescence, notamment la théorie du soma jetable de Kirkwood (1977). Afin de situer le contexte de ce travail, dans cette introduction générale, je commencerai par expliciter le phénomène de sénescence et sa place dans le monde vivant. J'exposerai un historique des principales théories évolutives de la sénescence et quelques mécanismes biologiques en action lors du vieillissement, qui soutiennent ces théories évolutives. Dans un second temps, j'exposerai les éléments déjà existants entre croissance ou développement et sénescence. Je présenterai ensuite les spécificités du modèle biologique, *Tenebrio molitor*, le ver de farine, utilisé pour ce travail, ainsi que les informations déjà disponibles sur sa sénescence. Enfin, je détaillerai le but et l'organisation de cette thèse.

I – La sénescence

A – Un phénomène connu de tous et pourtant bien moins évident qu'il n'y paraît

1 – Une définition unique de la sénescence ?

On sait tous d'expérience ce qu'est le vieillissement, aussi appelée sénescence. On constate bien que tous les êtres vivants qui nous entourent, y compris les congénères humains, déclinent inexorablement avec l'âge à partir du moment où ils sont devenus adultes. « Un déclin lié à l'âge et persistant des composants de la valeur sélective (ou fitness) d'un organisme, dû à des détériorations physiologiques »² est probablement l'une des définitions les plus classiques de la sénescence. Elle est énoncée par Michael R. Rose en 1991 dans *Evolutionary biology of aging* (Rose, 1991) et est elle-même une extension de celle proposée par Comfort dans les différentes éditions, entre 1956 et 1979, de son ouvrage, *The biology of senescence* : « l'augmentation au cours de la vie, ou à partir d'un certain stade de la vie, de la probabilité qu'un organisme donné à mourir, au temps considéré suivant, de causes

² "a persistent decline in the age-specific fitness components of an organism due to internal physiological deterioration" (Rose, 1991)

aléatoirement distribuées »³. La sénescence inclut de très nombreux éléments, parmi les plus globaux et visibles figurent l'augmentation de la probabilité de la mortalité (sénescence actuarielle), une réduction de la fertilité (sénescence reproductive), une diminution de la résistance aux maladies (cancer, maladies infectieuses, etc.) (Cohen, Legault et Fülöp, 2020), ainsi que les phénomènes cellulaires et génomiques qui les accompagnent (López-Otín *et al.*, 2013).

Si nous devons donner une définition simple de la sénescence à partir de celles trouvées dans la littérature (Comfort, 1979 ; Finch, 1994 ; Kirkwood et Austad, 2000 ; Ricklefs, 1998 ; Rose, 1991), nous pourrions proposer que la sénescence est le déclin des performances de l'organisme et de la fitness au cours de l'âge adulte ayant pour origine différentes causes physiologiques. C'est une règle quasi-universelle, à tel point que, dans le langage courant, « vieillissement » (*ageing* en anglais) et « sénescence » sont des synonymes (Hughes et Reynolds, 2005 ; Monaghan *et al.*, 2008 ; Shefferson *et al.*, 2017). En effet, comment imaginer le vieillissement, c'est-à-dire le fait de prendre de l'âge, sans la sénescence, le déclin qui l'accompagne ?

Ce phénomène a été et est encore un sujet d'étude majeur, que ce soit du point de vue des conséquences, de celui des mécanismes physiologiques sous-jacents ou de celui des mécanismes évolutifs. La sénescence touche tellement d'aspects de l'organisme et semble si multifactorielle (Kirkwood, 2005 ; López-Otín *et al.*, 2013 ; Medvedev, 1990) que certains auteurs pensent que faire référence à tous ces phénomènes comme LA sénescence est une erreur qui masque une diversité de phénomènes (Cohen *et al.*, 2020 ; Peto et Doll, 1997). D'autres, au contraire, défendent l'unité du concept en s'appuyant sur les notions les plus basiques de sa définition tout en prenant en compte son hétérogénéité (notamment Gladyshev, 2016, avec son concept de "*deleterio*") : il s'agit d'une accumulation de dégâts et de changements délétères accompagnant l'âge. Le fait de traiter ou non la sénescence comme un phénomène global semble surtout être une question d'échelle et devrait donc s'adapter à chaque recherche particulière. S'il s'agit de trouver des « traitements » contre le vieillissement, il paraît évident qu'il vaut mieux s'intéresser seulement aux « symptômes » et

³ "a progressive increase throughout life, or after a given stadium, in the likelihood that a given individual will die, during the next succeeding unit of time, from randomly distributed causes" (Comfort, 1979)

à leurs causes proximales de façon indépendante (Cohen *et al.*, 2020 ; Vijg et Campisi, 2008). Si l'on s'intéresse davantage aux théories et mécanismes généraux qui provoquent ce déclin, considérer la sénescence comme un seul phénomène semble avoir du sens. Dans le présent travail, je me placerai dans ce second cadre et je parlerai donc de la sénescence comme du déclin global de l'organisme avec l'âge, même si je m'intéresse à plusieurs facettes de ce déclin : la survie, la reproduction et l'immunité.

2 – Un phénomène universel ?

Tous les biologistes le savent, lorsque l'on s'intéresse au monde vivant et que l'on énonce « c'est une règle universelle », on a très souvent tort. La sénescence ne fait évidemment pas exception (Flatt et Partridge, 2018 ; Shefferson *et al.*, 2017). Chez les groupes biologiques où les études traitant de la sénescence ont été les plus fréquentes, les mammifères (avec un gros biais pour l'humain), les oiseaux (voir Nussey *et al.*, 2013 pour une synthèse sur des mammifères et des oiseaux) et quelques espèces d'invertébrés dont des modèles classiques comme *Drosophila spp.* et *Caenorhabditis elegans*, la sénescence semble être la règle (Shefferson, Jones et Salguero-Gómez, 2017). Dans d'autres branches du vivant, cette généralisation n'est pas aussi évidente. Il y a des cas de ce que l'on peut désigner comme de la « sénescence négligeable » (une absence de déclin avec l'âge) et même des cas de « sénescence négative », c'est-à-dire, des cas où, à l'âge adulte, il y a des améliorations physiologiques au cours du temps (modélisée par Vaupel *et al.*, 2004 ; Baudisch, 2005 ; Steinsaltz *et al.*, 2005). Une des prédictions est que les espèces avec une croissance non-finie et une fertilité et/ou une survie dépendante de leur taille pourraient expérimenter ce type de trajectoire de sénescence négligeable ou négative (Jones et Vaupel, 2017 ; Munné-Bosch, 2015 ; Vaupel *et al.*, 2004). Les autres caractéristiques pouvant favoriser une sénescence négligeable, voire négative, sont liés à une faible séparation du soma et de la lignée germinale, avec notamment, la capacité à se reproduire de manière végétative (Flatt et Partridge, 2018 ; Vaupel *et al.*, 2004). Ces prévisions ont été vérifiées dans plusieurs études s'intéressant à différentes parties de l'arbre de vivant (voir Jones *et al.*, 2014, pour une méta-analyse). Les angiospermes, par exemple, semblent pour la plupart échapper à la sénescence (Baudisch *et al.*, 2013 ; Munné-Bosch, 2015). D'après ces mêmes auteurs les plantes ont longtemps été négligées quant à l'étude de leur sénescence (Baudisch *et al.*, 2013). Il semble cependant y avoir aussi bien des espèces de plantes sénescentes (Van Dijk, 2009), que des non sénescentes

(Garcia *et al.*, 2011 (discutée comme pouvant être de la sénescence négative) ; Rose *et al.*, 1998), que des cas de sénescences négatives.

Une autre limite de la définition que nous avons donné de la sénescence vient du fait que chez certaines espèces, dont l'humain, la sénescence, ici *stricto sensu* l'augmentation de la probabilité de mourir, pourrait s'arrêter passé un certain âge (Carey *et al.*, 1992 ; Rose *et al.*, 2012 ; Shahrestani *et al.*, 2009). C'est ce que Mueller décrit comme une « troisième phase de la vie »⁴, faisant suite à la croissance et à l'âge adulte (Mueller, Rauser et Rose, 2011).

B – Les origines évolutives de la sénescence

La sénescence est un déclin des performances de l'organisme et de ses chances de survie avec l'avancée de l'âge adulte, incluant notamment, les capacités de reproduction. La sénescence représente donc une baisse de fitness indiscutable pour l'individu. Alors, pourquoi est-ce que la sénescence serait apparue et aurait pu se maintenir chez autant d'êtres vivants ?

Les revues sur les théories des mécanismes de la sénescence, évolutifs ou physiologiques, ou les articles théoriques présentant des prédictions sont nombreux dans la littérature (Hughes et Reynolds, 2005 ; Johnson *et al.*, 2019 ; Le Bourg, 2001 ; Ljubuncic et Reznick, 2009 ; Partridge et Gems, 2002 ; Rose, 1991 ; Rose *et al.*, 2008 ; Weinert et Timiras, 2003). Je vous propose une rétrospective sur les 150 dernières années des principales théories évolutives de la sénescence, avec un focus sur celles reposant sur des compromis évolutifs, en particulier incluant la croissance, et quelques éléments les corroborant ou non. Notons dès à présent que beaucoup d'entre elles sont encore d'actualité, ne sont pas exclusives et produisent parfois des prédictions similaires.

1 – La sénescence comme un produit de la sélection naturelle

L'idée que la sénescence pourrait être le produit de la sélection naturelle a été énoncée pour la première fois par Weismann en 1881 et publiée en 1891 et 1892 (Rose *et al.*, 2008 citant Weismann, 1892, 1891). À partir du constat que la longévité est un trait héritable, Weismann proposa que la durée de vie soit programmée (**théorie de la mort programmée**⁵) comme un

⁴ "A third phase of life" (Mueller, Rauser et Rose, 2011)

⁵ "Theory of programmed death" (Weismann, 1891, 1892)

avantage à l'échelle de l'espèce et non de l'individu (Ljubuncic et Reznick, 2009 citant Weismann, 1891). En effet, les plus âgés (qui même s'ils étaient immortels ne pourraient éviter les blessures au fil du temps, blessures qu'ils ne pourraient réparer parfaitement), seraient moins performants que les jeunes, et consommeraient des ressources qui auraient pu servir à ces derniers. Cette idée fut évidemment fortement critiquée (Medawar, 1952) et Weismann lui-même l'abandonna plus tard. En effet, outre le fait que la sélection agirait plus au niveau de l'espèce qu'à celui de l'individu, cette idée constitue un raisonnement circulaire : si les individus ne subissent pas la sénescence, il n'y a pas de raison pour qu'en vieillissant, ils ne soient pas capables de réparer parfaitement les blessures subies. Bien que la théorie de la mort programmée ait peu de défenseurs, nous pouvons noter que certaines théories actuelles évoquent une sénescence programmée. Longo *et al.* (2005), notamment, ont obtenu chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* des résultats concordant avec leur théorie du vieillissement programmé et altruiste (Gladyshev, 2016 ; Longo *et al.*, 2005).

Cependant, Weismann a apporté plusieurs éléments cruciaux dans des théories énoncées ultérieurement, notamment celle du soma jetable de Kirkwood (1977). Il a théorisé la séparation des lignées germinales (les cellules participant directement à la reproduction) et somatiques (les autres cellules) (Kirkwood et Rose, 1991 ; Weismann, 1893) et avait spéculé une limite de nombre de divisions de ces dernières, ce qui allait dans le sens de la théorie de la mort programmée, comme mécanisme de la sénescence. Cette limite sera confirmée par Hayflick et Moorhead en 1961 (d'après Ljubuncic et Reznick, 2009). Il avait ainsi déjà avancé l'idée qu'une limite des capacités de réparation pourrait être à l'origine de la sénescence.

2 – La diminution de la force de la sélection naturelle avec l'âge induit une opposition entre début et plus tard dans la vie, au profit du début de la vie

a – La sénescence comme une conséquence d'une diminution de la sélection naturelle ...

Considérer la sénescence du point de vue de la génétique des populations a permis d'enfin comprendre l'une des forces majeures qui était à l'œuvre. Fisher, puis Haldane, proposèrent que la force de la sélection naturelle pourrait diminuer au cours de la vie adulte, et notamment après l'âge de la première reproduction (Fisher, 1930 ; Haldane, 1941). Cette affirmation a posé la première pierre de ce qui est à la base de nombreuses théories de la sénescence : **l'opposition entre « tôt » et « tard » dans la vie**. Ainsi, un gène affectant la survie ou la

reproduction tôt dans la vie d'un individu a un bien plus grand effet sur la fitness qu'un gène avec les mêmes effets mais plus tard dans la vie (Hughes et Reynolds, 2005).

Pour Williams, la mortalité extrinsèque est une composante importante de cette chute de la sélection naturelle avec l'âge (Charlesworth, 1993 ; Hughes et Reynolds, 2005 ; Monaghan *et al.*, 2008 ; Williams, 1957). En effet, parce que plus le temps passe plus la probabilité cumulée d'avoir été frappé par une maladie, la prédation ou un accident augmente, les vieux individus sont moins prompts à survivre (Gems et Partridge, 2013 ; Williams, 1957). Ce rôle de la mortalité extrinsèque adulte (en particulier, si on considère une mortalité extrinsèque indépendante de l'âge, sans considérer la mortalité extrinsèque des juvéniles) est fortement contesté (Abrams, 1993 ; Caswell, 2007 ; Day et Abrams, 2020 ; Moorad *et al.*, 2019 ; Wensink *et al.*, 2017 ; Williams *et al.*, 2006) et n'est pas nécessaire à Hamilton en 1966 pour établir un modèle où la force de la sélection naturelle diminue avec l'âge (Caswell, 2007 ; Charlesworth, 2000 ; Hamilton, 1966). Hamilton démontra mathématiquement que la sénescence peut apparaître dans une population structurée en âge, initialement sans sénescence. Cependant, l'idée de Williams que plus la mortalité extrinsèque adulte est forte, plus la sénescence doit l'être⁶, qui constitue la deuxième prédiction énoncée dans son papier de 1957, a toujours des défenseurs, qui affinent cependant le propos en rappelant que cette affirmation s'appliquait surtout à la comparaison d'espèces différentes (Gaillard et Lemaître, 2017 ; Hughes et Reynolds, 2005) et est encore présente dans de nombreux travaux traitant du vieillissement. Bien qu'originellement circonscrite à la comparaison d'organismes très différents, cette idée a été testée dans de nombreuses études avec un cadre plus ou moins restrictif, car, selon Moorad *et al.* (2019), cette hypothèse est une explication intuitive au patron de sénescence. De nombreux résultats vont dans le sens d'une augmentation du taux de sénescence avec l'augmentation de la mortalité extrinsèque **adulte** âge-indépendante. Cependant, d'après Moorad *et al.* (2019), nombre de ces résultats peuvent s'expliquer autrement et, dans beaucoup de cas, par une dépendance cachée de la mortalité extrinsèque à l'âge. La non-consideration de la mortalité extrinsèque juvénile par exemple peut fausser les conclusions. La question semble donc plus complexe et l'importance de prendre en compte la mortalité extrinsèque condition-dépendante à différents stades de la vie est crucial pour comprendre le

⁶ "Low adult death rates should be associated with low rates of senescence, and high adult death rates with high rates of senescence" (Williams, 1957)

rôle de la mortalité extrinsèque dans l'évolution de la sénescence, et notamment celle de la durée de vie (Abrams, 1993 ; Ronget *et al.*, 2017).

Si le rôle de la mortalité extrinsèque est plus complexe que ce que la théorie prévoyait à une époque dans l'apparition de la sénescence, les phénomènes de diminution de fitness avec l'âge et l'opposition entre début de la vie et une période plus tardive de la phase adulte, semblent robustes. C'est de cette opposition tôt/tard que les théories évolutives de la sénescence vont émerger.

b - ... qui induit une accumulation de mutations

Si la sélection naturelle perd en intensité avec l'âge après la première reproduction, rien n'empêche la fixation dans la population d'allèles mutantes ayant des effets délétères (surtout s'ils sont faibles), notamment sur la survie ou la reproduction, tant que ces effets agissent tard dans la vie de l'individu. Au fur et à mesure des générations, ces mutations délétères à effets tardifs s'accumulent, constituant un véritable fardeau génétique qui se traduirait par le phénomène de sénescence. Dans cette théorie, postulée par Medawar (1952), connue comme la **théorie de l'accumulation de mutations**, l'apparition de la sénescence est surtout un phénomène neutre, issu d'une absence de contre-sélection (Kirkwood et Rose, 1991). D'après Partridge et Gems (2002), la théorie de l'accumulation de mutations prévoit notamment : i) de nouvelles mutations avec effet délétère tardif devrait apparaître à fréquence mesurable ; ii) une rapide augmentation de la mortalité lorsque l'intensité de la sélection chute, c'est-à-dire après la reproduction. D'après ces mêmes auteurs, les preuves allant dans le sens de ces prédictions sont faibles. Ils en concluent donc que l'accumulation de mutations à un poids plus faible que d'autres théories pour expliquer le phénomène de sénescence.

c - ... qui induit une pléiotropie antagoniste

Williams a quant à lui proposé l'idée que si ces allèles mutants avaient, en plus de leur effet délétère tardif, un effet bénéfique sur la survie ou la reproduction plus tôt dans la vie, ils pourraient se fixer non pas seulement par dérive, mais bien parce qu'ils seraient sélectionnés. Il s'agit de la **théorie de la pléiotropie antagoniste** (Williams, 1957). Elle repose très explicitement sur le compromis entre le début et la fin de la vie, faisant s'opposer la croissance et la reproduction du début de la phase adulte avec la survie et la reproduction plus tardive. La pléiotropie antagoniste prévoit notamment que, compte tenu de la diminution de la force

de la sélection naturelle après l'âge de la première reproduction, les ampleurs de l'effet bénéfique tôt dans la vie et de l'effet délétère tardif n'ont pas à être équivalent pour que l'allèle soit sélectionné (Kirkwood et Rose, 1991) (Figure I.1). En effet, même si l'effet bénéfique tôt dans la vie est faible et l'effet délétère tardif fort, l'allèle mutant sera sélectionné tant que l'effet à l'âge précoce est un bénéfice. À noter que la pléiotropie antagoniste peut reposer sur deux modèles : le premier où l'effet délétère tardif du gène est distinct de son effet bénéfique plus tôt dans la vie ; et le second où l'effet délétère tardif découle directement de l'effet bénéfique précoce (Partridge et Gems, 2002). Dans le premier cas, dit modèle de l'action tardive⁷, si on peut désactiver le gène après son action bénéfique précoce, on ne retrouve plus son effet délétère tardif. C'est par exemple le cas du gène *daf-2* chez le nématode *C. elegans*, dont la désactivation après le développement, phase dans laquelle il joue un rôle critique, engendre une hausse de la longévité (Maklakov et Chapman, 2019 ; Partridge et Gems, 2002). Dans le second cas, le modèle des dommages latents⁸, l'effet bénéfique précoce et l'effet délétère tardif ne peuvent pas être découplés. C'est par exemple le cas quand la sénescence accrue est liée à des pics de fécondité précoces comme cela a souvent été observé, notamment par des expériences de sélection, chez la mouche *Drosophila melanogaster* (Luckinbill *et al.*, 1984 ; Partridge et Gems, 2002 ; Sgrò et Partridge, 1999).

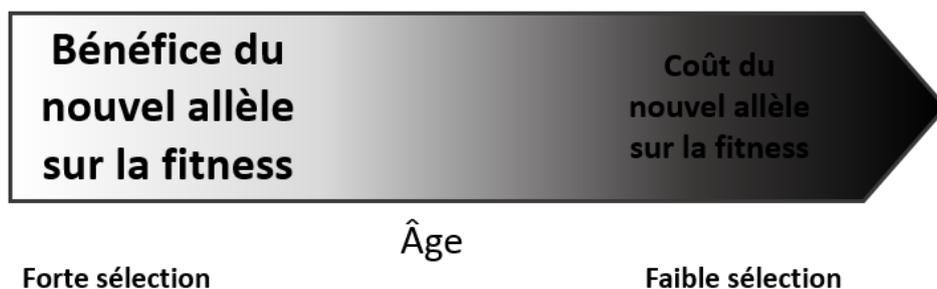


Figure I.1 : Principe de la pléiotropie antagoniste (d'après Gems, 2022). Un nouvel allèle peut être sélectionné même s'il a un effet délétère tard dans la vie, tant qu'il a un effet, même beaucoup plus faible, bénéfique sur des traits d'histoire de vie précoces, car la force de la sélection naturelle décroît avec l'âge.

Williams a établi neuf prédictions qui découlent de sa théorie, dont six sont corroborée par au moins quelques preuves empiriques (Gaillard et Lemaître, 2017). Parmi ces neuf prédictions, l'une nous intéressera le plus par la suite, car elle traduit directement un compromis entre

⁷ "Late action model" (Partridge et Gems, 2002)

⁸ "latent damage model" (Partridge et Gems, 2002)

croissance et sénescence, principalement visible à travers la longévité. Cette prédiction stipule que « un développement rapide devrait être corrélé avec une sénescence rapide »⁹ (cette idée était fortement basée, à l'époque, sur une idée d'un « rythme de vie », mais rencontre des échos dans d'autres théories).

La théorie de la pléiotropie antagoniste est notamment corroborée par de nombreuses expériences de sélection de lignées plus ou moins longévives/fécondes, en particulier chez *D. melanogaster*. En effet, Williams avait prédit que la sélection pour une longévité accrue devrait aboutir à une diminution des performances jeune¹⁰ (Williams, 1957). Les lignées de *D. melanogaster* sélectionnées pour avoir une plus grande longévité présentent effectivement une fécondité précoce plus faible (Luckinbill *et al.*, 1984 ; Rose, 1984 ; Rose et Charlesworth, 1981), mais aussi un temps de développement plus long (Partridge et Fowler, 1992).

Ce type de corrélations génétiques va évidemment dans le sens de cette théorie, mais pour être complet quant à la preuve d'une pléiotropie, il faut identifier un gène ou un complexe de gènes. Des gènes avec des actions pléiotropiques antagonistes entre les périodes de la vie ont effectivement été trouvés (Gaillard et Lemaître, 2017).

d - ... par le biais de compromis entre reproduction et maintien de l'organisme : la théorie du soma jetable

En 1977, Kirkwood pose les bases d'une théorie également fondée sur un compromis entre les périodes de la vie, mais davantage axée sur des considérations physiologiques en s'appuyant sur les compromis d'allocation d'énergie et de ressources (Kirkwood, 1977). **La théorie du soma jetable** (Kirkwood et Holliday, 1979) repose sur des compromis entre la reproduction, qui a lieu généralement tôt dans la vie adulte, et le maintien de l'organisme dans sa partie non-reproductive, le dit « soma » (Figure I.2). Les deux phénomènes, la reproduction et le maintien ou la réparation de l'organisme, sont des fonctions coûteuses en énergie et ressources. Ces dernières sont limitées et donc distribuées entre ces fonctions (Hughes et Reynolds, 2005) de sorte à optimiser la stratégie de l'organisme dans son environnement. La balance ne pouvant pencher de manière optimale vers un maintien parfait de l'organisme, la sénescence apparaît comme le résultat de l'accumulation de dommages, à

⁹ "Rapid individual development should be correlated with rapid senescence" (Williams, 1957)

¹⁰ "Successful selection for increased longevity should result in decreased vigor in youth" (Williams, 1957)

l'échelle moléculaire, cellulaire et tissulaire (erreur de réplication de l'ADN, blessures, ...), mal ou non réparés (Kirkwood et Austad, 2000 ; Kirkwood et Holliday, 1979). En effet, la théorie affirme qu'il n'y a pas d'intérêt à maintenir l'organisme jusqu'à un âge post-reproduction qui serait impossible à atteindre dans un environnement donné (Kirkwood, 2005 ; Monaghan *et al.*, 2008). Ainsi, la théorie prédit que les individus vivant dans un environnement plus sûr, devraient avoir une espérance de vie plus longue, conséquence d'un compromis entre reproduction et maintien du soma moins biaisé envers cette première. Le compromis peut être étendu en incluant la croissance comme un prérequis à la reproduction et donc une autre fonction en compétition avec le maintien de l'organisme (Cichoń, 1997 ; Drenos et Kirkwood, 2005). Je reviendrai sur ce dernier point plus en détail ultérieurement.

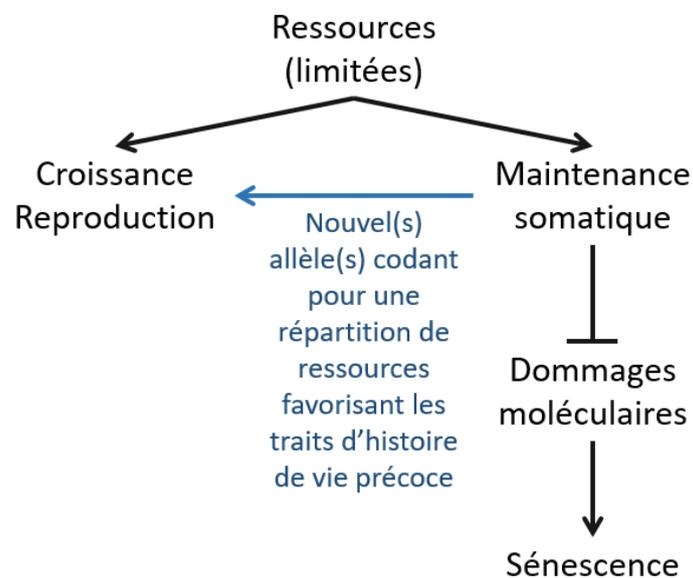


Figure I.2 : Principe de la théorie du soma jetable (à partir de Gems, 2022). Dans cette théorie, la sénescence est le produit d'un sous-investissement dans le maintien somatique au profit de la croissance et de la reproduction. Ainsi, les dommages au soma s'accumulent, menant à la sénescence. Compte tenu de la diminution de la force de la sélection naturelle, un ou des nouveaux allèles favorisant la répartition de ressources vers les fonctions de croissance et de reproduction peuvent être sélectionnés.

La théorie du soma jetable fait sensiblement les mêmes prédictions que celle de la pléiotropie antagoniste, et n'est pas en opposition avec celle-ci, mais est souvent décrite comme une version plus physiologique (Kirkwood, 2005 ; Maklakov et Chapman, 2019). Le résultat principal de ces théories se traduit généralement par une augmentation de la fécondité au début de la vie adulte, au prix d'une survie moins longue. Cela n'a rien d'étonnant compte tenu du fait qu'elles reposent toutes deux sur un compromis entre le début et la fin de la vie.

Nous pouvons cependant remarquer quelques points les séparant dans le sens où Kirkwood se cantonne originellement à une opposition stricte entre croissance, reproduction et maintien de l'organisme et ne présume pas que le support serait à l'échelle de gènes pléiotropiques. Kirkwood se place dans une approche très large basée sur la théorie de l'optimalité (Kirkwood et Rose, 1991), c'est-à-dire sur des compromis entre traits d'histoire de vie pour aboutir à des stratégies optimales dans l'environnement et dans les limites intrinsèques des organismes considérés (Parker et Maynard-Smith, 1990 ; Partridge et Barton, 1993 ; Stearns, 2000). Ainsi, des résultats comme ceux compilés et analysés par Lemaître *et al.* (2015), montrant l'existence, dans 21 sur 26 études sur des vertébrés (oiseaux, mammifères et reptiles) en condition naturelle, de compromis entre traits d'histoire de vie de début de vie (âge de la première reproduction, taille des premières portées ou encore stratégie en termes de croissance) et des traits plus tardifs (âge à la mort, durée de la vie reproductive ou encore des mesures de taux de sénescence actuarielle), corroborent cette théorie.

e - ... par des processus de développement délétère à l'âge adulte

D'après de Magalhães et Church (2005), les raisonnements basés sur la diminution de la force de la sélection naturelle avec l'âge et sur la théorie de la sénescence de la pléiotropie antagoniste ont permis l'apparition d'une proposition de mécanisme pour la sénescence: la **théorie développementale de la sénescence** (dont une version était déjà proposé par Muller, 1963). S'appuyant sur des recherches liant le développement et la sénescence (comme ceux de Zwaan, 2003), de Magalhães et Church (2005) proposent que les mécanismes génétiques qui régulent la sénescence fassent, en premier lieu, partie des mécanismes du programme développemental de l'organisme (c'est-à-dire, la séquence génétiquement déterminée de processus cellulaires et moléculaires permettant d'aboutir à un adulte capable de se reproduire). Ainsi, ces processus sont optimisés pour le développement mais pas pour la survie après la première reproduction (de Magalhães et Church, 2005 ; Maklakov et Chapman, 2019) (Figure I.3). En cela, cette théorie diffère de la théorie du soma jetable puisque ce n'est pas un défaut d'investissement dans la réparation des dommages de l'organisme qui provoque la sénescence, mais l'action des processus même du développement (Maklakov et Chapman, 2019).

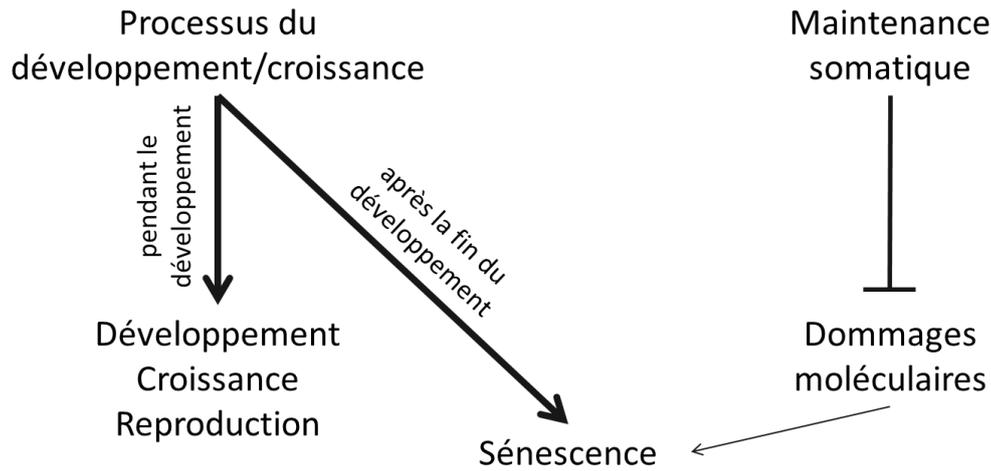


Figure I.3 : Principe de la théorie développementale du vieillissement. Dans cette théorie, la sénescence est le produit des processus impliqués dans le développement, la croissance et la reproduction précoce à l'âge adulte. La théorie ne nie pas le fait qu'il y ait une implication de l'accumulation des dommages avec le temps, mais postule que son effet sur le vieillissement est moindre par rapport à celle des processus de développement.

La théorie postule que les effets délétères après le développement pourraient découler de la continuité de l'action de certains éléments du programme développemental (de Magalhães et Church, 2005). Ainsi, la désactivation du gène *daf-2*, comme celle d'une soixantaine d'autres gènes de *C. elegans*, a un effet négatif sur le développement du ver, mais un effet protecteur quand elle a lieu après la fin du développement (Maklakov et Chapman, 2019). L'autre possibilité est que le ralentissement ou l'arrêt de certains éléments du programme développemental après la fin du développement ait des effets délétères (de Magalhães et Church, 2005). La perte de muscles consécutive au début du stade adulte serait un effet de ce type. L'absence de sénescence, voire parfois la sénescence négative, observée chez des espèces à croissance indéfinie semble très cohérente avec cette théorie.

Le premier mécanisme de la théorie développementale de la sénescence peut également se rapprocher de la **théorie de l'hyperfonction** (Blagosklonny, 2012, 2021; Gems et Partridge, 2013; Gems, 2022). Cette théorie repose à l'origine sur l'effet antagoniste de la voie impliquant notamment la kinase TOR (*Target Of Rapamycin*) sur les cellules. En effet, cette voie promeut la croissance et le développement cellulaire mais peut aussi, dans le cas où la croissance cellulaire est bloquée, provoquer la sénescence des cellules (Blagosklonny, 2012). D'après Blagosklonny, cela se répercute à l'échelle de l'organisme par le fait que la continuation et la sur-stimulation des voies métaboliques impliquées dans la croissance et le développement, produiraient, après la fin de ces derniers, un sur-fonctionnement (par

rapport à ce qui serait adéquat pour que l'organisme puisse se maintenir indéfiniment) aboutissant à des organes défaillants, provoquant les maladies que nous qualifions généralement comme liées à l'âge (diabète, hypertension, ostéoporose, défaillance rénale ou cardiaque, etc.) et, finalement, la mort (Figure I.4). L'hyperfonction menant, à terme, à la perte de fonction.

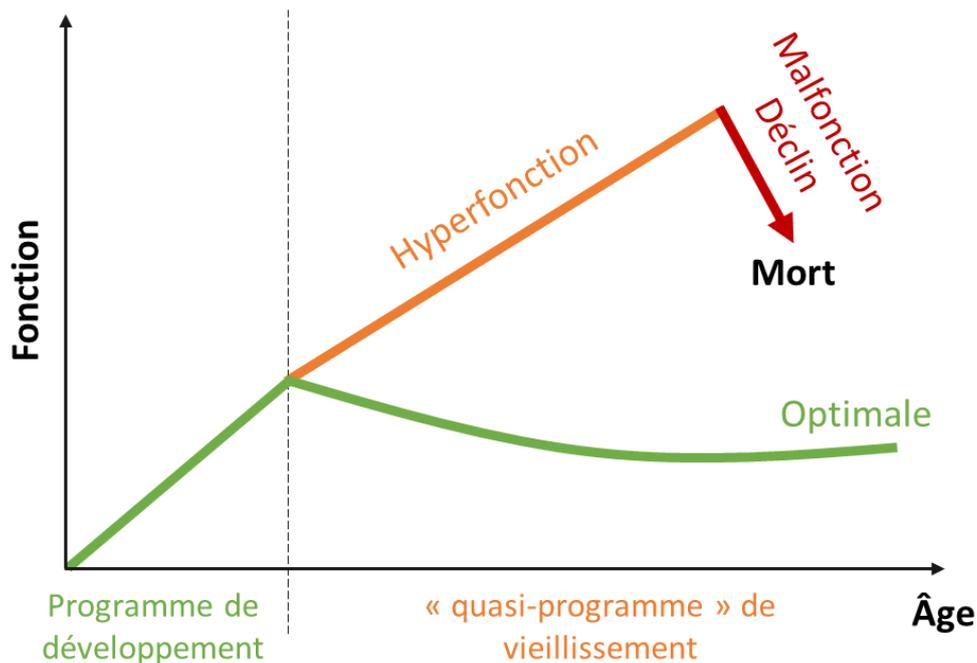


Figure I.4 : Théorie de l'hyperfonction d'après Blagosklonny (2021, 2012). L'hyperfonctionnement des programmes développement après la fin de celui-ci provoque à terme un déclin des fonctions des organes aboutissant à la mort. Les mécanismes de régulation à l'âge adulte de ce programme de développement, qui permettraient de se placer sur la ligne de fonctionnement optimal (en vert) n'ont pas été sélectionnés, car les effets délétères apparaissent tardivement, quand la force de la sélection naturelle a diminué. Le programme de développement devient ainsi à l'âge adulte un quasi-programme de vieillissement. Le terme quasi-programme étant utilisé car il ne s'agit d'un programme sélectionné pour le vieillissement mais qui a cet effet comme « dommage collatéral ».

L'arrêt ou la régulation des processus avantageux pour le développement (dans le cas de la première possibilité de la théorie développementale et dans la théorie de l'hyperfonction, ou son maintien dans le cas de la seconde possibilité de la théorie développementale) n'a simplement pas été sélectionné car les effets délétères apparaissent à un âge où la force de la sélection est faible (Gems, 2022). Ces théories, décrites comme des théories de la sénescence quasi-programmée, n'impliquent pas de compromis directs entre fonctions, et ne reposent pas sur l'inexorable accumulation des dommages à l'organisme avec le temps contrairement à celle du soma jetable.

La voie métabolique de signalisation identifiée comme ayant des effets antagonistes entre le développement (et la croissance généralement) et la sénescence est celle impliquant le complexe insuline/IGF-1 (*Insuline Growth Factor*) et la kinase TOR (Gems, 2022). Ces protéines sont extrêmement conservées au sein des vertébrés et des invertébrés (Allard et Duan, 2011 ; Barbieri *et al.*, 2003 ; Gems, 2022). Ces protéines promeuvent la croissance et le développement (Gems, 2022). De nombreuses expériences réduisant leur activité ont permis d'augmenter la longévité chez différentes espèces (Pan et Finkel, 2017) et de réduire le taux de croissance (pour l'insuline/IGF-1, Lind *et al.*, 2016). L'effet bénéfique, extrêmement documenté, des restrictions caloriques et nutritionnelles sur la longévité semble d'ailleurs lié à la voie insuline/IGF-1 (Pan et Finkel, 2017).

C – Support moléculaires à la sénescence

Après avoir examiné les différentes théories évolutives expliquant l'apparition et l'évolution de la sénescence, je vais présenter un bref résumé des mécanismes physiologiques proposés. Je ne vais évidemment pas les couvrir toutes, tout comme je ne l'ai pas fait pour toutes les théories évolutives (Medvedev, en 1990, recensait plus de 300 théories de la sénescence dans sa classification). Ces mécanismes s'inscrivent à l'échelle moléculaire et cellulaire, la sénescence de l'organisme étant le fruit de la sénescence de ces cellules et des tissus qu'elles composent. Dans un premier temps, on peut remarquer que beaucoup de ces mécanismes constituent des accumulations de dommages ou une usure à l'échelle moléculaire au cours de la vie : accumulation d'erreurs de réplication de l'ADN, présence d'éléments transposables dans le génome, accumulation de déchets, perte de protéines essentielles non parfaitement remplacées, etc. (Jones et Vaupel, 2017 ; Medvedev, 1990 ; Oliveira *et al.*, 2010 ; Richter *et al.*, 1988). Dans cette perspective d'usure, ces mécanismes sont donc tout à fait compatibles avec les théories évolutives impliquant des compromis entre la croissance et la reproduction tôt dans la vie et les performances plus tardives de l'organisme.

Oliveira *et al.* (2010) proposent une séparation des théories basées sur la génétique moléculaire de celles basées sur la biochimie. Je vais suivre cette classification pour plus de simplicité. Les « jalons » du vieillissement proposés par López-Otín *et al.* (2013, 2016) sont également une source intéressante de classement des mécanismes de la sénescence dans la mesure où certains d'entre eux correspondent à des phénomènes d'accumulation de

dommages (instabilité génomique, attrition des télomères, altérations épigénétiques et accumulation de protéines défectueuses) et d'autres correspondent davantage à ce que décrit la théorie développementale de la sénescence avec des mécanismes avantageux en début de vie, mais qui provoquent de l'usure ou sont manquants sur le long terme. Ces mécanismes sont pluriels, ne sont évidemment pas exclusifs et peuvent être souvent vus comme complémentaires (Jones et Vaupel, 2017). Nous pouvons cependant noter une omniprésence du stress oxydatif décrit dans la théorie radicalaire, avec de très nombreux appuis empiriques.

1 – Les mécanismes moléculaires génétiques du vieillissement

a – Les mutations somatiques

En raison d'une capacité de réparation de l'ADN imparfaite, des erreurs de réplifications, des cassures et autres dégâts de l'ADN peuvent s'accumuler dans les cellules somatiques et provoquer à terme des dysfonctionnements à l'échelle de l'organisme, ce que nous qualifions de sénescence (Kirkwood, 2005 ; Vijg, 2000). Un lien positif entre la capacité de réparation de l'ADN et la longévité semble aller dans le sens de cette **théorie de l'accumulation de mutations** somatiques (Kirkwood, 2005 ; Vijg, 2000) ou perte de stabilité du génome (López-Otín *et al.*, 2016). Cette théorie est très présente en cancérologie, le cancer étant considéré comme notamment lié à la sénescence.

b – Mutation mitochondriale

Les mutations peuvent aussi s'accumuler dans l'ADN mitochondrial. Lorsque la charge de mutation devient trop grande, cela peut aboutir à des dysfonctionnements dans la production d'ATP et donc mettre en péril la presque totalité des fonctions de la cellule (Kirkwood, 2005). De plus, cette théorie repose aussi sur un cercle vicieux car, avec les dysfonctionnements du métabolisme respiratoire, la production d'espèces réactives de l'oxygène pouvant abîmer l'ADN augmente (Jacobs, 2003).

c – L'attrition des télomères

Les télomères sont des séquences d'ADN répétées associées avec des complexes protéiques (shelterines) présentes au bout des chromosomes des cellules eucaryotes (Lin et Epel, 2022). À chaque répllication de l'ADN, en raison de l'incapacité des polymérases à reproduire l'extrémité des chromosomes, les télomères se réduisent jusqu'à une longueur limite,

provoquant la sénescence puis la mort de la cellule (Chan et Blackburn, 2004 ; Lin et Epel, 2022). Ceci serait la cause de la « limite de Hayflick », postulant un nombre de division fini pour les cellules somatiques (Hayflick et Moorhead, 1961). La sénescence et la mort cellulaire impactent le tissu puis l'organisme entier, provoquant la sénescence. Une version plus complexe de la théorie de l'attrition des télomères, impliquant, en plus des télomères, des séquences sub-télomériques et le changement de leur transcription comme mécanisme de la sénescence, a été récemment proposée (Libertini *et al.*, 2021). Les télomérases, des protéines capables de rallonger les télomères, sont plus actives dans les cellules souches, les cellules germinales (et les cellules cancéreuses) (Razgonova *et al.*, 2020). Dans les cellules somatiques, elles sont peu actives, aboutissant au phénomène décrit précédemment.

d – Dommages épigénétiques

Avec l'âge, des modifications épigénétiques peuvent réduire l'accessibilité de l'ADN, provoquant une expression anormale de gènes, une instabilité du génome et l'activation d'éléments transposables (Gladyshev *et al.*, 2021 ; López-Otín *et al.*, 2016, 2013). Leurs conséquences délétères font que ces modifications sont qualifiées de dommages. Ces altérations sont, par exemple, des modifications post-traductionnelles des histones (des protéines structurant l'ADN).

e – Protéines altérées et accumulation de « déchets »

L'intégrité du protéome de la cellule dépend des protéines chaperons¹¹, des protéasomes¹² et de mécanismes d'autophagies¹³ visant à corriger ou à se débarrasser des protéines endommagées ou non-conformes (Kirkwood, 2005 ; López-Otín *et al.*, 2016). Avec l'âge, l'activité des protéines chaperons et des protéasomes diminue. Cela induit une accumulation de protéines dysfonctionnelles qui provoque des dérèglements à plus grande échelle *in fine*. D'après López-Otín, il y a un cercle vicieux entre les changements métaboliques qui accompagnent le vieillissement et qui entraînent cette accumulation de protéines défectueuses.

¹¹ Protéines participant au bon repliement des autres protéines (pour qu'elles puissent être fonctionnelles) et empêchant pendant cette étape la formation d'agrégat entre protéines non encore conformées (repliées).

¹² Complexes enzymatiques dégradant les protéines dysfonctionnelles.

¹³ Mécanisme de recyclage d'éléments cellulaires, notamment, les protéines.

2 – La théorie radicalaire du vieillissement

Le mécanisme qui semble rencontrer le plus de succès dans les études sur l'accumulation de dégâts à l'organisme pour expliquer le vieillissement est celui impliquant des oxydants, notamment les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Oliveira, Nogueira-Machado et Chaves, 2010) : la **théorie radicalaire du vieillissement**. Depuis que Gerschman *et al.* (1954) ont prouvé que les espèces réactives de l'oxygène étaient toxiques, puis que Harman (1956) a proposé que cela pourrait être à l'origine du vieillissement car pouvant endommager les tissus, les preuves se sont accumulées (Barja, 2004 ; Lu et Finkel, 2008 ; Oliveira *et al.*, 2010).

Les ROS (et leur équivalent azoté dans une moindre mesure, les espèces réactives de l'azote) endommagent les macromolécules : lipides, protéines et ADN. Les ROS sont des produits du fonctionnement normal de la cellule. Ils sont principalement le fruit de la respiration cellulaire et donc produits dans la mitochondrie (Barja, 2004). Des antioxydants, exogènes ou endogènes, existent pour réduire les dégâts engendrés par les radicaux. Mais leur action est imparfaite et les dommages s'accumulent donc avec le temps (Barja, 2004 ; Oliveira *et al.*, 2010), conduisant à des défaillances à plus grande échelle, c'est-à-dire, la sénescence.

Avec cette source d'accumulation de dommages, cette théorie fait directement écho aux théories évolutives présentées précédemment. L'action de ces radicaux peut aussi amplifier certains mécanismes vus précédemment comme l'accumulation de dommage sur l'ADN (nucléaire et mitochondrial (Ziada, Smith et Côté, 2020)), dont l'attrition des télomères, qui a été montrée comme plus forte lors de stress oxydatif (Reichert et Stier, 2017 chez l'humain) et les dégâts aux protéines (López-Otín *et al.*, 2016).

Les ROS ne sont pas seulement une nuisance pour la cellule, ils servent aussi de signaux pour divers processus, entre autres lors de la croissance et de la différenciation cellulaire (Oliveira, Nogueira-Machado et Chaves, 2010). Cette opposition entre rôle dans la croissance et dangerosité sur le long terme évoque les théories développementales et de l'hyperfonction présentée plus haut.

Enfin, des espèces oxydantes sont impliquées dans l'immunité chez les vertébrés (Knight, 2000) mais aussi chez les invertébrés, notamment avec la phénoloxydase (Vigneron *et al.*, 2019). Ces composés sont, comme précédemment évoqué, cytotoxiques et, s'ils peuvent

servir à combattre les parasites, ils endommagent aussi dans une certaine mesure l'organisme (Knight, 2000 ; Sadd et Siva-Jothy, 2006). On voit donc ici comment immunité et sénescence peuvent être liés par des mécanismes complexes, sur lesquels je reviendrai au cours de cette thèse.

II – Développement, croissance et sénescence

A – Un lien entre développement et/ou croissance et sénescence souvent théorisé...

1 – Développement et croissance

a – Définition des notions

Quand on aborde la question de la phase de croissance en lien avec la sénescence, deux notions sont à préciser. En effet, lors de la phase juvénile d'un organisme a lieu le **développement**, c'est-à-dire, la différenciation des cellules et tissus pour aboutir à un organisme adulte capable de se reproduire (Lind *et al.*, 2017; Lind et Johansson, 2011; van der Have et de Jong, 1996). Mais, durant cette phase a aussi lieu la **croissance** : une prise de masse par unité de temps pour aboutir à la taille adulte (Lind *et al.*, 2017; Lind et Johansson, 2011; van der Have et de Jong, 1996). Ces deux phénomènes sont évidemment intimement liés puisqu'ils participent tous deux à la constitution de l'organisme adulte et que le développement à généralement lieu pendant la croissance (ou vice-versa). Dans les études utilisant ces notions dans le cadre de leur lien avec la sénescence, le développement est généralement traité comme le **temps de développement**, c'est-à-dire la durée mise par l'organisme pour devenir adulte, et la croissance en tant que **taux de croissance** (Lind *et al.*, 2017), une prise de masse par unité de temps. Il est à noter que certains organismes expérimentent des phases de croissance post-développement. Ces espèces sont généralement à croissance indéfinie ou ont une période de croissance prolongée post-puberté.

b – Les avantages d'un développement ou d'une croissance rapide

Se développer ou grandir vite présente des avantages à court terme non négligeables pour un organisme. En effet, atteindre rapidement l'âge adulte (c'est-à-dire se développer en un temps court) permet à l'organisme de réduire sa vulnérabilité face à différentes composantes de l'environnement (Metcalf et Monaghan, 2003). Cet avantage concerne en particulier la vulnérabilité face à la prédation, généralement accrue lors de la phase juvénile (Metcalf et Monaghan, 2003), mais aussi aux maladies et aux parasites. Ainsi, un temps de développement court serait surtout un avantage dans des environnements changeants, incertains ou dangereux (Lind *et al.*, 2011 ; Stearns, 1992). Devenir adulte plus rapidement que ces congénères permet également d'accéder plus vite à la reproduction et donc de réduire ou d'avoir un avantage dans la compétition reproductive en début de vie adulte (Metcalf et Monaghan, 2003).

Un taux de croissance important, c'est-à-dire une capacité à prendre rapidement de la masse lors de la croissance, a comme principal avantage de permettre d'atteindre une taille adulte et une masse adulte initiale plus grandes (Dmitriew, 2011 ; Metcalf et Monaghan, 2003). En effet, chez la plupart des êtres vivants, démarrer sa vie adulte avec une taille plus grande et/ou davantage de réserves présente un avantage en terme de fitness (Dmitriew, 2011). Par exemple, pour les mâles appartenant à des espèces dans laquelle la taille est un critère de choix pour les femelles ou dans laquelle la compétition entre mâles est forte, être plus imposant donne un avantage pour la reproduction (Metcalf et Monaghan, 2003). D'autre part, pour les femelles, avoir davantage de réserve en début de vie reproductive offre un bonus de fécondité par rapport aux autres femelles (Metcalf et Monaghan, 2003).

c – Les inconvénients d'un développement ou d'une croissance rapide

Malgré ces avantages, le taux de croissance maximal d'un organisme est rarement atteint (voir Dmitriew, 2011 pour une synthèse ; Metcalf et Monaghan, 2003, 2001) et le temps de développement rarement minimisé. Ce constat amène à la conclusion qu'une croissance rapide doit avoir des coûts. Si quelques coûts à court terme sont identifiables, comme le fait que la nécessité d'une recherche de davantage de ressources alimentaires accompagnant un fort taux de croissance peut entraîner davantage de risques de prédation, ces coûts ne semblent pas être la principale raison de cette non maximisation du taux de croissance. En

effet, d'après Dmitriew (2011), même quand il n'y a pas de prédation, le taux de croissance n'est pas maximal.

Le coût d'une croissance ou d'un développement accéléré semble davantage se porter à plus long terme, comme entraînant par exemple une immunité plus faible (Rantala et Roff, 2005 ; van der Most *et al.*, 2011), mais aussi et surtout, une baisse des performances plus tard dans la vie adulte, et notamment, une diminution de la longévité (voir Dmitriew, 2011 ; Gaillard et Lemaître, 2017 ; Metcalfe et Monaghan, 2003 pour le propos général, mais tous les articles qui seront cités plus tard, dans la sous-partie B, en particulier le 2-a, de cette partie traitent de ce sujet). Metcalfe et Monaghan (2003) synthétisent les causes possibles de cette nuisance sur les performances tardives, en particulier la longévité, en expliquant que cette contrepartie d'un développement et d'une croissance rapides pourrait provenir : i) de l'induction de dommages à l'organisme et d'un plus faible investissement dans la réparation et le maintien (Cichoń, 1997), c'est-à-dire le mécanisme proposé par la théorie du soma jetable ; et/ou ii) d'un organisme qui serait « bâclé »¹⁴, c'est-à-dire avec des tissus et structures présentant des erreurs de développement et/ou des faiblesses qui les rendraient moins résistants (Arendt, 1997). Une troisième voie possible serait celle proposée par la théorie développementale de la sénescence et celle de l'hyperfonction (de Magalhães et Church, 2005; Blagosklonny, 2012, 2021) où une activité plus importante des processus du développement entraînerait une sénescence plus rapide et/ou forte. Cette réduction des performances tardives comme contrepartie d'un développement ou d'une croissance rapides fait donc évidemment écho aux différentes théories de la sénescence présentées dans la première partie de cette introduction générale.

2 – Développement, croissance et théories de la sénescence

L'idée d'un lien négatif entre la vitesse à laquelle se déroule la phase juvénile d'un organisme et la sénescence n'est pas nouvelle. En effet, avant même la prédiction de Williams (1957), la théorie d'un « rythme de vie » existait déjà (Brody, 1927 ; McCay, 1933). Les théories actuellement discutées de la sénescence proposent que la sénescence accrue ou plus précoce en tant que coût d'une croissance et/ou d'un développement rapides résulterait de la diminution de la force de la sélection naturelle plus tard dans la vie adulte (Blagosklonny, 2021

¹⁴ L'expression utilisée par les auteurs est "*jerry-built body*" (Metcalfe et Monaghan, 2003).

; de Magalhães et Church, 2005 ; Haldane, 1941 ; Kirkwood, 1977 ; Williams *et al.*, 2006). Cela entraînerait une opposition entre tôt et tard dans la vie, dont l'ajustement serait, comme toujours avec les compromis évolutifs, le résultat de l'expression du bagage génétique des organismes dans leur environnement (Metcalfé et Monaghan, 2003), certains environnements favorisant des stratégies dites « grandir vite, mourir jeune »¹⁵. Si le compromis le plus étudié est celui entre la fécondité précoce et la sénescence, la croissance est aussi à considérer comme un potentiel s'opposant à la sénescence dans ce compromis. La croissance pourrait notamment être la fonction s'opposant à la longévité (ou au maintien des fonctions tardives dans la vie adulte en général) lorsqu'aucun compromis avec la fécondité n'est identifié (Edward et Chapman, 2011 ; Flatt, 2011 ; Flatt et Partridge, 2018 ; Maklakov et Immler, 2016 ; Ricklefs, 2006).

Ces théories prévoient donc qu'une intensification des traits d'histoire de vie précoces (réduction du temps de développement, augmentation du taux de croissance, augmentation de la fécondité en début de vie adulte) devrait s'accompagner d'une contrepartie sous la forme d'une baisse de performances, notamment de survie, plus tard dans la vie adulte. Cependant, les mécanismes sous-tendant ces phénomènes diffèrent en fonction de la théorie sous-jacente considérée. Dans la théorie du soma jetable (Drenos et Kirkwood, 2005 ; Kirkwood, 1977), la sénescence résulte d'un sous-investissement dans la réparation et le maintien de l'organisme, au profit de la croissance et de la reproduction. Cela entraînerait une accumulation de dommages non réparés qui finirait par aboutir au phénomène de déclin général que nous appelons sénescence. Ces dégâts pourraient notamment être causés par des espèces réactives de l'oxygène (ou de l'azote) (Oliveira *et al.*, 2010 ; Rollo, 2002) qui endommageraient des macromolécules comme l'ADN, les lipides ou les protéines. La théorie développementale de la sénescence et la théorie de l'hyperfonction proposent quant à elles que le vieillissement soit la conséquence directe du fonctionnement des mécanismes du développement et de la croissance (de Magalhães et Church, 2005), qui seraient adaptés au fonctionnement de l'organisme au cours de la période de croissance/développement mais pas au fonctionnement à l'âge adulte.

¹⁵ "Grow fast, die young"

B - ... avec quelques preuves...

1 – Des tendances interspécifiques fortes

Comme le prédisait Williams (1957), il existe bien une tendance interspécifique chez les animaux qui atteignent rapidement le stade adulte à vieillir plus vite et donc à avoir une vie moins longue. En effet, on observe un *continuum slow-fast* dans lequel les grands organismes ont un développement plus long, une reproduction plus tardive et une longévité à l'âge adulte plus étendue que les organismes de plus petite taille, donc à développement plus rapide (Stearns, 1983 ; Jones *et al.*, 2008 ; Gaillard *et al.*, 2016 ; Healy *et al.*, 2019). Parmi les différentes espèces d'oiseaux et de mammifères, le taux de développement pré- et post-natal semble lié au taux de sénescence actuarielle (Ricklefs, 2006, 2006 ; Ricklefs et Scheuerlein, 2001). Ce *continuum slow-fast* est, au moins chez les mammifères, en lien avec la concentration d'IGF-1 des organismes (Swanson et Dantzer, 2014, 41 espèces de mammifères). Les espèces avec des concentrations en IGF-1 plus élevées présentent notamment un développement plus rapide et une longévité réduite. Notons cependant que ce lien interspécifique entre concentration en IGF-1 et longévité n'a pas été confirmé par Stuart et Page (2010) (sur 36 espèces de mammifères).

2 – Quelques preuves intraspécifiques

Si cette tendance entre croissance et longévité semble être détectable à l'échelle interspécifique, sa mise en évidence à l'échelle intraspécifique est plus rare et surtout plus complexe à obtenir.

a – Méthodes utilisées pour modifier la croissance ou le développement

La synthèse de Dmitriew (2011) donne un éventail des méthodes utilisées pour étudier le compromis entre croissance/développement et d'autres traits d'histoire de vie, et notamment la sénescence :

- i) des études reposant sur la variabilité de temps de développement ou de taux de croissance offerte par des **populations différentes** ou des **lignées** (Dudycha et Tessier, 1999 ; Kraus *et al.*, 2013 ; Lints et Soliman, 1977 ; Rantala et Roff, 2006) ;

- ii) des expériences de **sélection artificielle**, portant directement sur la vitesse de développement ou de croissance (Lind *et al.*, 2017 ; van der Most *et al.*, 2011 ; Zwaan *et al.*, 1995), ou indirectement sur un autre trait mis ensuite en corrélation avec ces vitesses (Cotter *et al.*, 2008 ; Lind *et al.*, 2017) ;
- iii) des expériences d'**évolution expérimentale**, où des populations sont créés artificiellement en appliquant pendant plusieurs générations différents niveaux d'une modalité environnementale et sont ensuite comparées sur des traits d'histoire de vie (Reznick *et al.*, 1990, 2004 ; Stearns *et al.*, 2000) ;
- iv) des expériences de **modifications environnementales** lors du développement. Elles reposent donc sur la plasticité des organismes, et sont le type d'étude le plus fréquemment mené pour mettre en relation la vitesse de croissance ou de développement et la sénescence.

Dans ce dernier cas, les modifications de l'environnement peuvent reposer sur une modification appliquée sur tout le temps du développement ou de la croissance (Angell *et al.*, 2020 ; Janssens et Stoks, 2018 ; Lints et Soliman, 1977 ; Olsson et Shine, 2002) ou une modification plus ponctuelle au cours du développement. Dans ce cas, la modification peut provoquer un phénomène de compensation de croissance lorsque la modification environnementale s'arrête (généralement une accélération de la croissance, ou rattrapage, mais aussi parfois un ralentissement) (Barker *et al.*, 2002 ; Lee *et al.*, 2013 ; Metcalfe et Monaghan, 2001).

Quel que soit le type d'expérience choisi, les études ont globalement produit des résultats allant dans le sens des théories prévoyant qu'un développement ou une croissance plus rapide s'accompagne d'une sénescence accrue. Je détaillerai certains de ces résultats dans les paragraphes suivants. Je n'ai évidemment pas comme objectif de faire une liste exhaustive des études traitant de ce sujet, mais simplement de donner quelques exemples d'expériences aux protocoles divers ayant abouti à des résultats. En effet, il existe de nombreuses façons d'effectuer de telles modifications environnementales. Les restrictions alimentaires agissent évidemment sur le taux de croissance (Dmitriew, 2011). Certaines modifications environnementales moins directes, comme le taux de prédation ou des conditions physiques (comme la température) peuvent avoir un impact sur la capacité à acquérir des ressources, et donc agir principalement sur le taux de croissance. Les modifications liées à la saisonnalité et

donc induisant un stress temporel (photopériode, température, hydropériode, prédation dans certains cas) agissent davantage sur le temps de développement. En effet, il est plus avantageux pour un organisme d'atteindre l'âge adulte avant que les conditions ne deviennent moins favorables, même si cela s'accompagne de contreparties sur d'autres traits d'histoire de vie tels qu'une taille adulte faible ou une longévité réduite. Nous pouvons d'ores et déjà noter que dans la grande majorité des études testant les liens entre vitesse de développement ou de croissance et sénescence, c'est la longévité, et parfois la sénescence actuarielle lorsque les profils de mortalité âge-spécifiques ont été traités, qui sont considérées comme marqueurs de sénescence. Certaines études traitent aussi de la sénescence reproductive. Les études liant développement ou croissance et sénescence immunitaire sont beaucoup plus rares. Des études sur la vitesse de développement ou de croissance et l'immunité, sans considération de sénescence, sont plus fréquentes.

b – Croissance, longévité et sénescence actuarielle

Les théories de la sénescence prévoient qu'un temps de développement court et/ou un taux de croissance important devraient aboutir à une sénescence actuarielle accrue et à une longévité réduite (Kirkwood, 2005).

- Temps de développement

Des preuves allant dans le sens d'un compromis entre le temps de développement et la longévité ont notamment été établies par des corrélations entre traits d'histoire de vie, comme démontré par Stearns *et al.* (2000) sur *D. melanogaster*. Dans cette expérience visant à tester l'hypothèse selon laquelle une mortalité extrinsèque forte chez les adultes devrait sélectionner pour des traits d'histoire de vie « précoces », les auteurs ont appliqué une mortalité forte ou faible à l'âge adulte sur plusieurs générations de mouches. Les mouches issues des cages ayant subi une forte mortalité présentaient effectivement un temps de développement plus court et une longévité moindre. Cependant, il est à noter que ce compromis n'a pas été mis en évidence par Reznick *et al.* (1990, 2004) avec le même type de modification de la mortalité extrinsèque mais cette fois-ci en milieu naturel et via la prédation, sur des guppies, *Poecilia reticulata*. Les auteurs constatent bien qu'une mortalité extrinsèque accrue chez les adultes diminue le temps de développement après plusieurs générations, mais sans altérer le seuil du début de la sénescence actuarielle.

La comparaison de populations du complexe d'espèce de crustacés d'eau douce, *Daphnia pulex-pulicaria* venant de mares éphémères ou pérennes (donc d'environnement présentant un stress temporel fort ou presque absent) a montré que les populations soumises à une hydropériode plus courte, se développaient plus rapidement, mais vivaient moins longtemps et présentaient une augmentation précoce et plus forte de la sénescence actuarielle (Dudycha et Tessier, 1999).

Le fait qu'un développement plus rapide s'accompagne d'une longévité diminuée a aussi été démontré par Lind *et al.* (2017), sur le nématode *Caenorhabditis remanei*, à travers une expérience de sélection directe visant à modifier la durée de développement. Les lignées sélectionnées pour avoir un temps de développement plus court vivaient moins longtemps. Les auteurs ont également pris en compte le taux de croissance dans leur étude, mais ils soutiennent que la plus grande robustesse des résultats avec le temps de développement devrait conduire à conclure que c'est ce dernier qui a un effet prépondérant dans le compromis développement/croissance et longévité. De plus, ces auteurs ont aussi pu établir un lien entre ce compromis et les capacités de réparation de l'organisme (tout au moins, les capacités de résistance au stress), car une sélection pour un temps de développement plus court s'accompagnait d'une résistance plus faible à des chocs thermiques. Inversement, une sélection pour une résistance accrue aux chocs thermiques était accompagnée d'un temps de développement plus long. Ce constat semble aller dans le sens des théories de la sénescence basée sur une accumulation de dommages par manque de réparation (Kirkwood, 1977 ; Medawar, 1952). Nous pouvons cependant aussi noter un cas, au moins, d'expérience de sélection pour des développements plus ou moins rapides n'ayant pas abouti à une longévité réduite pour les individus s'étant développés rapidement, chez *D. melanogaster* (Zwaan, Bijlsma et Hoekstra, 1995).

Des modifications environnementales lors du développement au sein de diverses espèces ont également donné des résultats probants (Dmitriew, 2011). Ainsi, chez une espèce d'odonate, *Lestes viridis*, la modification du temps de développement par des photopériodes différentes, impliquant un stress temporel, a notamment abouti à des individus présentant un développement plus rapide, une longévité réduite, ainsi qu'une masse adulte plus faible (Janssens et Stoks, 2018). Cet effet du temps de développement a pu être lié au stress oxydatif et à la production de ROS. En effet, l'exposition au 2-4-dinitrophenol (DNP) (un agent

découplant mitochondrial, permettant de réduire la production de ROS lors de la respiration cellulaire) des larves subissant le traitement de stress temporel leur a permis de se développer encore plus vite, mais a aussi et surtout, fait disparaître les effets délétères sur la longévité et la masse adulte (Janssens et Stoks, 2018). Chez la mouche *Protopiophila litigata*, l'exposition à différentes qualités d'alimentation larvaire, a abouti à des individus ayant atteint le stade adulte plus ou moins vite (Angell *et al.*, 2020). Les alimentations les plus riches engendraient des temps de développement plus court, mais également des adultes plus grands et vivant plus longtemps, certainement par un effet dit *silver spoon* (Grafen, 1988), c'est-à-dire, des individus plus qualitatifs quand ils ont grandi dans un environnement plus riche (ici ceux qui ont eu les meilleures alimentations larvaires ont pu se développer vite, être grands ET vivre plus vieux). Cependant, bien que les individus les plus rapides à se développer vivaient plus vieux que les plus lents, leur sénescence actuarielle augmentait plus rapidement, allant dans le sens des hypothèses des théories de la sénescence, et montrant la nécessité de considérer à la fois la longévité et les trajectoires de sénescence actuarielle (Angell *et al.*, 2020). Deux autres expériences de Zwaan *et al.* (1992, 1991), sur *D. melanogaster*, mais consistant cette fois-ci en une modification de la quantité de nourriture accessible pendant le stade larvaire, via la densité larvaire et en une modification de la température lors du développement, n'ont pas donné de résultats concluants sur le lien positif entre le temps de développement et la longévité.

- Taux de développement

Le lien négatif entre le taux de croissance et la survie sur le long terme a pu être corroboré de façon corrélative (Gaillard et Lemaître, 2017), notamment chez le chien avec la comparaison de races de différentes tailles. En effet, les grandes races de chien grandissent plus rapidement que les petites et sont aussi celles qui vieillissent le plus vite (en terme d'état de santé) et qui vivent le moins longtemps (Kraus, Pavard et Promislow, 2013). En revanche, l'observation du taux de croissance et de la longévité chez différents écotypes du coléoptère *Tribolium castaneum* par Lints et Soliman (1977) a montré une corrélation positive. Chez l'humain, le rattrapage de croissance des enfants nés avec une taille et/ou un poids plus faible que la moyenne, augmente les risques d'hypertension (cet effet est atténué quand l'enfant a grandi dans de bonnes conditions par la suite, faisant écho à l'effet *silver spoon* évoqué plus tôt) (Barker *et al.*, 2002).

Les effets du rattrapage de croissance peuvent aussi être étudiés expérimentalement (Metcalfé et Monaghan, 2001). Ce mécanisme permettant aux organismes d'atteindre une taille adulte leur offrant de bonnes chances de reproduction et de survie en début de vie adulte se paye notamment par une diminution de la longévité (Dmitriew, 2011 ; Metcalfé et Monaghan, 2001). Par exemple, chez l'épinoche, *Gasterosteus aculeatus*, un rattrapage de croissance, suite à un ralentissement ponctuel (relativement à l'espérance de vie de l'espèce) induit par une baisse de température temporaire, provoquait une baisse de la longévité (Lee, Monaghan et Metcalfé, 2013). Inversement, une augmentation ponctuelle du taux de croissance, induite par une augmentation de température temporaire, était suivie par un ralentissement de la croissance qui provoquait une augmentation de la longévité. Les auteurs ont aussi appliqué un stress temporel via la photopériode, modifiant donc le temps de développement, en même temps que le protocole de rattrapage de croissance. Cette modification du temps de développement disponible augmentait l'effet du rattrapage de croissance.

Enfin, des approches expérimentales avec des modifications environnementales plus longues au stade juvénile montrent aussi des preuves allant dans le sens d'une relation négative entre taux de croissance et longévité. Ainsi, chez *D. melanogaster*, divers environnements larvaires induisent différents taux de croissance (par la modification du temps de développement et/ou de la masse en fin de croissance) (Lints et Soliman, 1977). Ces différents taux de croissance sont corrélés négativement avec la longévité (Lints et Soliman, 1977). De la même manière, chez le lézard *Niveoscincus mircolepidotus*, une variation de taux de développement, induite par différents comportements de recherche de nourriture sous différents profils de température, a montré une survie moindre des individus ayant grandi le plus vite (Olsson et Shine, 2002).

De plus, ce compromis entre croissance (et reproduction, mais ce n'est pas ce qui nous intéresse ici) et maintien de l'organisme sur le long terme est fortement soutenu par l'existence de mécanismes endocriniens avec des effets antagonistes sur ces deux types de fonctions (pour des revues sur ce sujet, voir Bartke *et al.*, 2013 ; Flatt *et al.*, 2013 ; Russell et Kahn, 2007).

Cependant, il est à noter que le compromis entre vitesse de croissance ou de développement et longévité, ou sénescence actuarielle, n'est pas trouvé systématiquement.

b – Croissance et sénescence reproductive

Si la grande majorité des études traitant du lien entre la vitesse de développement/croissance et la sénescence aborde la sénescence actuarielle, ou simplement la longévité, la sénescence étant un phénomène global, elle touche toutes les fonctions de l'organisme, y compris l'autre composante de base de la fitness qu'est la reproduction. On peut donc s'attendre à ce qu'un développement ou/et une croissance rapide provoque une sénescence reproductive accrue, c'est-à-dire une diminution des performances reproductives au cours de la vie adulte. Il est d'autant plus crucial d'étudier plusieurs composantes de la sénescence que celles-ci ne sont pas forcément liées ou synchrones (Hayward *et al.*, 2015 ; Roper *et al.*, 2021). Le phénomène « d'investissement terminal » par exemple (Clutton-Brock, 1984) se caractérise par un report de toutes les ressources d'un individu vers la reproduction, au détriment notamment de la survie lorsque, l'âge venant, les opportunités de reproduction future s'amenuisent. Ainsi, dans ce cas, les performances reproductives en fin de vie d'un individu peuvent augmenter, par l'effet d'un changement dans les compromis d'allocation d'énergie et de ressources entre la reproduction et d'autres fonctions.

Quantifier la sénescence reproductive n'est donc pas une mince affaire. En effet, cela demanderait dans l'idéal de considérer les deux sexes (les mâles étant sous représentés dans les études), mais aussi tout le schéma de la reproduction de la production de gamètes jusqu'aux soins parentaux s'ils existent (Lemaître et Gaillard, 2017). Si de nombreuses études attestent de l'existence de la sénescence reproductive (voir revue de Nussey *et al.*, 2013, pour des exemples en milieu naturel), celles qui lient vitesse de développement et sénescence reproductive sont plus rares (Lemaître *et al.*, 2015).

Dans les études citées précédemment, les performances reproductives, voire la sénescence reproductive, sont parfois considérées. Globalement, une vitesse de développement et/ou de croissance plus rapide s'accompagne d'une fécondité précoce accrue et parfois d'une forte baisse de la fécondité tardive. Par exemple, dans l'expérience d'évolution expérimentale de Stearns *et al.* (2000) sur *D. melanogaster*, dans laquelle les mouches des groupes subissant une mortalité extrinsèque adulte plus forte sur plusieurs générations avaient des temps de

développement plus courts et une longévité réduite, les mouches les plus rapides pour se développer présentaient aussi un pic de fertilité plus précoce et donc des performances reproductives tardives amoindries. Chez *D. culex-pulicaria*, les femelles ayant un temps de développement réduit, car appartenant à une population subissant une hydropériode incertaine, avaient une fécondité qui diminuait plus tôt et plus vite que leurs congénères à développement plus lent (Dudycha et Tessier, 1999). Chez la mouche *P. litigata*, les mâles les plus rapides à se développer ont une légère tendance à présenter plus de sénescence reproductrice (d'après leur taux d'accouplement) (Angell *et al.*, 2020). Dans la revue de Lemaître *et al.* (2015) sur les compromis entre « tôt et tard » dans la vie chez les vertébrés en milieu naturel, les auteurs citent deux études testant formellement le lien entre croissance et performance reproductrice tardive : une sur le bison (Green et Rothstein, 1991), relatant une relation négative entre vitesse de croissance et reproduction tardive ; et une sur la couleuvre *Thamnophis elegans*, avec une relation allant à l'encontre des prédictions des théories de la sénescence puisque, sur plusieurs paramètres, les performances reproductives des femelles augmentant avec l'âge (Sparkman, Arnold et Bronikowski, 2007). Dans ce dernier cas, les auteurs discutent l'implication de la croissance indéfinie de l'espèce dans ce résultat de « sénescence négative ».

c – Croissance, immunité et sénescence immunitaire

L'immunosénescence, ou sénescence immunitaire, est un phénomène se caractérisant par une perte d'efficacité de la réponse immunitaire et de sa régulation (Pawelec, 2018). Elle se caractérise par une plus grande vulnérabilité face aux infections, mais contribue également à des maladies dégénératives, comme le cancer ou les maladies auto-immunes. Elle est extensivement étudiée chez l'humain et certains vertébrés modèles, comme la souris (Müller *et al.*, 2013 ; Stanley, 2012), avec cependant, peu d'études sur le long terme (Müller *et al.*, 2013 ; Pawelec, 2018). Chez les vertébrés, il semble qu'aussi bien les défenses immunitaires innées (phagocytose, cellules « natural killer », production de cytokine, etc.) que les défenses acquises (lymphocytes T et B) diminuent avec l'âge (Müller *et al.*, 2013 ; Pawelec, 2018). Chez les invertébrés, la sénescence immunitaire est principalement étudiée chez *C. elegans* et *D. melanogaster*, mais a aussi été rapportée chez plusieurs autres espèces (voir Stanley, 2012), notamment d'autres insectes. Nous le verrons plus en détail dans la dernière partie de cette introduction avec l'exemple de l'immunité de *T. molitor*. L'immunité des invertébrés reposent

sur des mécanismes constitutifs et inductibles innés qui peuvent être cellulaires ou humoraux (Vigneron *et al.*, 2019). Ces deux types de mécanismes immunitaires peuvent montrer une diminution d'expression et de performance avec l'âge (Adamo *et al.*, 2001 ; Stanley, 2012). L'immunosénescence peut cependant être plus complexe à étudier puisque les différents composants de l'immunité peuvent ne pas présenter de sénescence ou ne pas avoir le même profil de sénescence (Jehan *et al.*, 2022a ; Khan *et al.*, 2016 ; Rolff, 2001).

Il semble y avoir peu d'études liant développement et/ou croissance et immunité, et encore moins à l'immunosénescence. Cependant il est à noter que, chez les insectes, l'hormone juvénile (JH), une hormone pléiotrope qui agit, entre autre, sur le temps de développement, le taux de croissance et la fécondité notamment précoce (Flatt, Tu et Tatar, 2005), diminue la fonction immunitaire (Rantala, Vainikka et Kortet, 2003). De plus, cet effet peut différer selon le type d'immunité considérés et le stade de développement (Amaro-Sánchez *et al.*, 2023). Ainsi, chez *T. molitor*, au stade larvaire, la JH n'a pas d'effet sur la réponse proPO / phénoloxydase (PO) (mécanisme humoral), ni sur la concentration en hémocytes (immunité cellulaire). En revanche, chez les adultes, elle agit sur le système proPO/PO mais pas sur la concentration en hémocytes (Amaro-Sánchez *et al.*, 2023).

Le taux de croissance ou le temps de développement semblent aussi être liés à une activité immunitaire plus ou moins forte. Par exemple, chez les volailles d'élevage, les lignées sélectionnées pour un taux de croissance plus fort montraient une diminution dans leur fonction immunitaire (voir van der Most *et al.*, 2011, pour une synthèse). Pour les invertébrés, en sélectionnant des lignées du lépidoptère *Spodoptera littoralis* avec une cuticule plus ou moins foncée (caractère censé être lié à la capacité de mélanisation, un mécanisme de l'immunité des invertébrés via le système proPO/PO), Cotter *et al.* (2008) ont constaté que les lignées plus pâles avaient une activité de la PO plus forte mais une activité du lysozyme plus faible, bien qu'elles s'étaient aussi développées lentement. Les auteurs interprètent ce dernier point comme un signe de compromis entre PO et développement. Ici encore, on retrouve l'idée que tous les composants de l'immunité ne montrent pas le même type de compromis face à un même trait d'histoire de vie. De la même manière, Rantala et Roff (2005) ont identifié, chez des grillons *Gryllus bimaculatus*, dont les parents avaient été capturés en milieu naturel, une corrélation négative entre le temps de développement et le taux d'encapsulation, mais une corrélation positive entre ce même temps de développement et

un autre mécanisme de la fonction immunitaire, l'activité lytique, allant ici dans le sens attendu. Cependant, il est à noter que ces mêmes auteurs n'ont pas retrouvé ce même lien entre le temps de développement et l'immunité lorsqu'ils ont testé avec des grillons, *Gryllus firmus*, de lignées consanguines et leurs hybrides (Rantala et Roff, 2006).

Il existe davantage d'informations sur une relation inverse par rapport à notre problématique, où l'activité immunitaire peut avoir un impact négatif sur la croissance (voir Spurlock, 1997 pour une revue des mécanismes pouvant être à l'œuvre, chez les animaux d'élevage). Des relations négatives sont également documentées entre activité immunitaire et sénescence, notamment actuarielle (Pursall et Rolff, 2011), mais aussi reproductive (voir Schwenke *et al.*, 2016, pour une revue dans le sens de l'immunité impactant négativement la reproduction mais aussi l'inverse).

La relation entre développement/croissance et immunité semble donc être complexe et celle avec l'immunosénescence être sous-documentée.

C - ... et difficile à mettre en évidence

La raison pour laquelle il y a nettement moins d'étude sur l'hypothèse d'un compromis entre la vitesse de développement ou de croissance et la sénescence vient probablement de la difficulté de se détacher des effets confondants. La taille adulte, le temps de développement, lorsque l'on veut étudier le taux de croissance et vice-versa, ainsi que d'autres effets potentiels du moyen utilisé pour modifier le développement ou la croissance, sont autant de facteurs qui peuvent avoir en eux-mêmes un effet sur la sénescence (Metcalf et Monaghan, 2003 ; Dmitriew, 2011). En effet, la taille des individus après puberté est connue pour être un indice de qualité, ce qui pourrait par conséquent fausser l'effet délétère supposé d'un taux de croissance plus grand. Pour le cas des rattrapages de croissance notamment, les effets de la période initiant le rattrapage, autre que celui de déclencher le rattrapage, sont difficilement séparables de l'effet du rattrapage lui-même (Metcalf et Monaghan, 2003). Cette remarque est évidemment valable pour toutes les modifications environnementales. À cela s'ajoute, pour les sénescences reproductive et immunitaire, le fait qu'il soit nécessaire de faire des mesures longitudinales, nécessitant des protocoles plus contraignants à mettre en place.

Dans cette thèse, j'ai misé sur deux approches complémentaires qui sont une approche corrélative avec des lignées consanguines montrant des temps de développement et des taux de croissance contrastés, ainsi que sur une approche expérimentale avec deux types de modifications environnementales altérant le temps de développement et le taux de croissance.

III – *Tenebrio molitor* : un bon modèle d'étude pour la sénescence

A – Un insecte passé de nuisible à économiquement intéressant

Le ver de farine ou ténébrion meunier, *Tenebrio molitor*, est un insecte coléoptère de l'ordre des Tenebrionidae. Le ténébrion meunier est considéré comme un nuisible car il se nourrit et vit dans les produits alimentaires stockés, en particulier les céréales stockées et leurs dérivés, comme les farines. L'espèce est originaire d'Europe mais est actuellement trouvable partout dans le monde (Ramos-Elorduy *et al.*, 2002).

Depuis une dizaine d'année, l'espèce est également considérée comme ayant un intérêt économique, car les larves peuvent servir à l'alimentation animale comme une source de protéines. Ainsi, les larves peuvent servir d'alternative au soja et à ses dérivés (Grau *et al.*, 2017 ; Hong *et al.*, 2020). De plus, son élevage peut aussi permettre la dégradation de déchets alimentaires (Ramos-Elorduy *et al.*, 2002). Enfin, au-delà de l'alimentation des animaux d'élevage ou des animaux de compagnie, les larves de *T. molitor* pourraient aussi constituer un aliment pour les humains qui pourrait être avantageux écologiquement et nutritionnellement (Siemianowska *et al.*, 2013). L'Union Européenne autorise la commercialisation des larves de *T. molitor* congelées, séchées ou en poudre pour l'alimentation humaine depuis le 8 février 2022¹⁶. Ce dernier point rend d'autant plus crucial de connaître les traits d'histoire de vie de la phase larvaire de l'espèce et les conditions qui permettraient d'optimiser les traits précoces de croissance en regard des potentiels problèmes que cela pourrait engendrer sur la reproduction.

¹⁶ (Règlement d'exécution (UE) 2022/169 de la commission, 2022)

B – Cycle de vie

Le ténébrion meunier est une espèce modèle scientifique assez répandue. Pouvant être élevé aisément en laboratoire, son cycle de vie et les conditions pouvant l'influencer sont bien connus (Punzo, 1975 ; Punzo et Mutchmor, 1980 ; Ribeiro *et al.*, 2018 ; Urs et Hopkins, 1973).

T. molitor étant holométabole (c'est-à-dire un insecte réalisant une métamorphose complète), les individus passent par plusieurs stades de développement avec des formes très différentes : œuf, larve, nymphe et adulte. Les durées des différents stades sont très variables selon les populations et l'environnement (notamment la température, l'humidité, la quantité et la qualité de la nourriture et la densité larvaire) (Barnes et Siva-Jothy, 2000 ; Ghaly et Alkoaik, 2009 ; Punzo, 1975 ; Ribeiro *et al.*, 2018 ; Urs et Hopkins, 1973). À 24°C, les œufs de ténébrions meunier, blanc et long d'environ 1,7 à 1,8 mm, éclosent en entre 6 et 15 jours en larves. Celles-ci mesurent initialement moins de 2 mm. La phase larvaire dure entre 3 et 6 mois. C'est au cours de cette phase que les individus vont grandir. Ainsi, dans la suite, le temps de la phase larvaire sera celui que nous considérerons comme le temps de développement et celui qui nous permettra de calculer le taux de croissance. À la fin de la phase larvaire, avant de devenir des nymphes, les larves mesurent entre 20 et 30 mm. La nymphe est une phase critique dans le développement de *T. molitor* puisque, en plus d'être la phase où a lieu la métamorphose, l'insecte est extrêmement vulnérable durant cette phase. En effet, les ténébrions meuniers sont cannibales et vivent généralement dans des populations où tous les stades de développement cohabitent (Barnes et Siva-Jothy, 2000 ; Weaver et McFarlane, 1990). Ainsi, la durée de cette phase est courte et relativement peu variable, environ 10 jours à 24°C. Après son émergence, la cuticule de l'adulte se mélanise en quelques jours pour devenir noire et rigide. Les adultes font environ 10 mm. Les adultes vivent entre 37 et 96 jours (Ghaly et Alkoaik, 2009).

Les durées longues (pour un insecte) de la phase de croissance et de la phase adulte de cet insecte en font un modèle très adapté à l'étude des relations entre croissance et sénescence, étude qui nécessite un suivi tout au long de la vie des individus.

Ces insectes sont itéropares. Ainsi, ils s'accouplent et les femelles pondent des œufs tout au long de leur phase adulte. Les deux sexes sont matures cinq à huit jours après l'émergence.

Les femelles peuvent produire jusqu'à une trentaine d'œufs par jour. Cependant, ce nombre varie au cours de leur vie. Le nombre d'œufs pondus est généralement maximal dans les jours suivant le durcissement de la cuticule (entre cinq et dix jours après émergence), décroît généralement après deux ou trois semaines (Dick, 1937; Drnevich *et al.*, 2001), et reste ensuite assez faible, mais assez stable, jusqu'à la mort des individus (Jehan *et al.*, 2020). Les femelles possèdent une spermathèque, mais produisent plus d'œufs si elles s'accouplent régulièrement (Drnevich *et al.*, 2001).

C – Une immunité bien connue

Les connaissances sur les éléments et le fonctionnement de l'immunité de *T. molitor* ont été synthétisées par Vigneron *et al.* (2019). Je ferai un rapide résumé des éléments qui nous seront les plus utiles par la suite.

Outre une immunité comportementale caractérisée par des comportements permettant d'éviter les infections, de réduire la croissance des pathogènes ou/et les symptômes en cas de maladie déclarée (Vigneron *et al.*, 2019), et une immunité cuticulaire constituée par une barrière physique de chitine mais aussi des éléments de défenses biochimiques et physiologiques (Moret et Moreau, 2012), *T. molitor*, comme les autres insectes, possède une immunité hémocœlique. Cette immunité intervient quand les pathogènes ont franchi la barrière de la cuticule. L'immunité hémocœlique correspond à tous les processus impliqués dans la reconnaissance et l'élimination, ou la limitation du développement, des pathogènes présents dans l'organisme (Vigneron *et al.*, 2019). L'immunité hémocœlique implique des effecteurs cellulaires et humoraux, dont certains sont constitutifs, permettant une réponse immédiate aux infections. D'autres effecteurs sont inductibles (généralement humorales) et requièrent un peu de temps pour se mettre en place.

La réponse hémocœlique dépend de la reconnaissance de motifs moléculaires communs des pathogènes (*Pathogen-Associated Molecular Patterns* : PAMP), comme des lipopolysaccharides, des peptidoglycanes bactériens, des β -1,3 glucanes ou d'autres sucres, par des récepteurs capables de reconnaître ces motifs (*Pattern Recognition Receptors*, PRR). Selon les molécules reconnues, différentes réponses peuvent être déclenchées (Vigneron *et al.*, 2019).

La réponse cellulaire repose sur les hémocytes, les cellules circulantes de l'hémolymphe. Chez *T. molitor*, quatre types principaux d'hémocytes sont décrits (selon les études, jusqu'à 9 types peuvent être décrits, mais les différences deviennent alors trop subtiles pour être utilisées opérationnellement) (Gupta et Sutherland, 1966 ; Urbański *et al.*, 2018 ; Vigneron *et al.*, 2019 ; Vommaro *et al.*, 2021). Le type d'hémocyte le plus fréquent, constituant entre 50 et 60 % des hémocytes totaux, est le granulocyte. Ce sont des cellules ovales d'environ 10 µm de longueur dans le cytoplasme desquels on peut voir, en plus de leur noyau, de nombreux granules (Urbański *et al.*, 2018 ; Vommaro *et al.*, 2021). Ces cellules sont impliquées dans la phagocytose, processus consistant en l'internalisation dans la cellule puis la digestion de corps exogènes, notamment des micro-organismes. Le deuxième type d'hémocyte le plus fréquent chez *T. molitor* est le plasmacyte, constituant 23 à 28 % des hémocytes totaux. Les plasmacytes sont des cellules allongées, généralement en forme de fuseau (Urbański *et al.*, 2018 ; Vommaro *et al.*, 2021). Ces cellules sont impliquées dans l'encapsulation, processus permettant d'isoler les corps étrangers du reste de l'organisme par recouvrement de plasmacytes (Vigneron *et al.*, 2019). Les prohémocytes sont de petites cellules ovales de moins de 10 µm avec un grand noyau et peu de cytoplasme. Ils semblent être les précurseurs des autres hémocytes, bien que des transitions entre d'autres formes d'hémocytes aient déjà pu être observées (Gupta et Sutherland, 1966). Ils représentent entre 10 et 15 % des hémocytes totaux (Vigneron *et al.*, 2019). Enfin, les œnocytoïdes sont le type le moins fréquent puisqu'ils représentent entre 1 et 2 % des hémocytes totaux chez *T. molitor*. Ce sont de grandes cellules ovales produisant les enzymes servant à l'un des mécanismes humoraux de la réponse immunitaire, la mélanisation.

La mélanisation, comme l'encapsulation avec lequel elle agit en synergie contre les éléments trop gros pour être phagocytés, sert à isoler le corps étranger de l'organisme. Dans le cas de la mélanisation, cette isolation se fait grâce à la production de mélanine qui est déposée autour de la capsule cellulaire recouvrant le corps étranger. Ce mécanisme de défense humoral repose sur un ensemble d'enzymes dont la phénoloxydase (PO), qui catalyse l'oxydation de composés phénoliques en quinones. Ces dernières polymérisent de manière non enzymatique pour former la mélanine. Lorsque des PAMPs sont détectés, la PO, présente sous sa forme inactive, la prophénoloxydase (proPO), dans l'hémolymphe et certains hémocytes, est libérée puis activée (Vigneron *et al.*, 2019). L'activité de la PO produits de

nombreux composés réactifs et a été démontrée comme pouvant causer des dommages aux cellules et aux organes de l'organisme (Khan *et al.*, 2017 ; Sadd et Siva-Jothy, 2006), constituant ainsi, un phénomène d'auto-immunité. En effet, l'activation de la PO tôt dans la vie adulte, entraîne par exemple une mélanisation des tubes de Malpighi, réduisant la longévité de *T. molitor* (Khan, Agashe et Rolff, 2017).

Le dernier composant de l'immunité hémocoelique repose sur la production de peptides antibactériens par le corps gras (équivalent du foie) des insectes, consécutive à la détection de PAMPs (Vigneron *et al.*, 2019). Cette réponse immunitaire est au cœur de l'immunité induite des insectes et du phénomène de priming chez *T. molitor*, phénomène permettant une plus grande efficacité du système immunitaire des insectes suite à une première exposition à un microbe (Moret *et al.*, 2019 ; Vigneron *et al.*, 2019). Les peptides antibactériens constituent une réponse plus lente à se mettre en place que les autres, mais elle est plus spécifique et se maintient plus longtemps. En effet, les réponses cellulaires et la mélanisation peuvent se mettre en place en quelques minutes, alors que le pic de synthèse des peptides antibactériens intervient entre 24 et 48 heures après une infection (Haine, Pollitt, *et al.*, 2008), mais peut persister pendant au moins 40 jours (Jehan, 2020).

D – Connaissances sur la sénescence de *T. molitor*

Plusieurs aspects des relations entre reproduction, immunité et survie sont connus chez *T. molitor*. Comme je l'ai évoqué précédemment, l'activation de la composante humorale immunitaire de *T. molitor* reposant sur la PO provoque un phénomène d'auto-immunité réduisant la longévité de l'insecte (Khan, Agashe et Rolff, 2017). Des expériences de challenges immunitaires chez des femelles adultes de *T. molitor*, jeunes ou plus âgées, ont permis d'établir que les composantes cellulaires et le complexe PO/proPO présentent de la sénescence, mais que celle-ci n'était pas impactée par la reproduction (Jehan *et al.*, 2022a). L'activité des peptides antibactériens, quant à elle, n'a pas présenté de sénescence détectable dans cette étude, mais était négativement impactée par l'investissement reproductif (Jehan *et al.*, 2022b).

L'effort reproductif a aussi, conformément à la théorie du soma jetable, des effets sur l'immunité et la longévité. Cependant, ces effets sont différents selon les sexes. En effet, une

expérience de manipulation de l'effort reproductif de *T. molitor*, via une modification expérimentale du sex-ratio, a permis d'établir qu'un plus grand effort reproductif réduit la longévité des femelles, mais n'altère pas leur immunité (Jehan *et al.*, 2020). Chez les mâles, à la fois la longévité et la fonction immunitaire étaient négativement impactées (Jehan *et al.*, 2020). En outre, un challenge immunitaire tôt dans la vie adulte des femelles réduit leur fécondité (Jehan *et al.*, 2021).

Enfin, il est à noter que *T. molitor* semble adopter une stratégie de reproduction restreinte plutôt qu'une stratégie d'investissement terminal face à une menace pathogène mimée par un challenge immunitaire (Jehan *et al.*, 2022b). Ainsi, les femelles ne présentent pas une augmentation du nombre d'œufs pondus après un tel challenge. Ce nombre diminue avec l'âge mais reste ensuite assez constant, la fitness des femelles étant mieux expliquée par le fait qu'elles réduiraient leur reproduction pour maintenir une bonne immunité, favorisant ainsi leur survie et assurant une reproduction future non négligeable (Jehan *et al.*, 2022b).

IV – But et organisation de la thèse

Cette thèse propose, afin d'approfondir les connaissances sur les liens entre croissance, développement et sénescence, d'étudier ces relations chez *T. molitor* sur trois aspects : la sénescence reproductive, la sénescence actuarielle et la sénescence immunitaire.

Conformément aux prédictions des théories de la sénescence, un investissement accru dans la vitesse de développement et/ou de croissance devrait se traduire par une sénescence précoce et/ou plus forte, que ce soit en raison d'un sous-investissement dans la fonction de maintien du soma, comme le propose la théorie du soma jetable (Kirkwood, 1977), ou en raison des effets délétères potentiels à long terme des processus de croissance et de développement plus rapides, comme le propose la théorie développementale du vieillissement (de Magalhães et Church, 2005) ou celle de l'hyperfonction (Blagosklonny, 2012). En effet, bien que croître vite ou atteindre rapidement le stade adulte offrent des avantages directs au début de la vie, ils pourraient entraîner un coût sous la forme d'une sénescence accrue ultérieurement.

Je considérerai à la fois le taux de croissance et le temps de développement de *T. molitor*. Ces deux mesures ne peuvent pas être découplées chez *T. molitor* car l'espèce a une croissance

finie et que le développement et la croissance interviennent sur les mêmes périodes. Une exception pourrait cependant être considérée, le développement nymphal, développement sans croissance, mais dont le temps est court et extrêmement peu variable. Mes hypothèses initiales ne permettent donc pas faire une distinction entre l'effet du temps de développement et celui du taux de croissance, à l'exception de la prise en compte de la taille atteinte à l'âge adulte, qui peut avoir des conséquences, notamment sur la fécondité. En revanche, le temps de développement et le taux de croissance n'auront pas nécessairement les mêmes conséquences sur la sénescence. Un taux de croissance (correspondant à une prise de poids par unité de temps) faible ou élevé représente des investissements physiologiques différents pour les individus, et donc une contrainte plus ou moins forte sur le métabolisme futur. Par contre, un temps de développement long ou court, quant à lui, en plus d'impliquer de potentielles différences métaboliques, implique des durées d'exposition plus ou moins longues à des conditions environnementales adverses, telles que l'exposition aux blessures ou aux agents pathogènes (il est important de noter que les stades larvaires du ténébrion sont a priori plus exposés que les adultes de par, notamment, une barrière cuticulaire plus faible). La modulation sur le temps de développement impactera sans doute la nécessité d'utiliser plus ou moins longtemps le système immunitaire, ce qui pourrait potentiellement impacter les traits de vie futurs des adultes. Ainsi, les hypothèses qui guideront l'ensemble de cette thèse peuvent être résumées de manière schématique à l'aide de la Figure I.5. Un développement plus rapide (c'est-à-dire, un temps de développement plus court), en tenant compte d'un taux de croissance similaire (Figure I.5.A comparée à I.5.C, ou I.5.B comparée à I.5.D), devrait s'accompagner d'une longévité adulte réduite, caractérisée par une sénescence actuarielle précoce et/ou plus prononcée, ainsi que par une sénescence reproductive (diminution de la fécondité avec l'âge) précoce et/ou plus prononcée. Un temps d'exposition potentiellement plus court aux agents pathogènes pour ces individus, combiné à un investissement accru dans le développement, devrait également entraîner une diminution de leur immunité, en particulier pour les composantes immunitaires agissant sur le long terme, telles que les peptides antibactériens (Haine, Moret, *et al.*, 2008 ; Haine, Pollitt, *et al.*, 2008 ; Moret *et al.*, 2019 ; Vigneron *et al.*, 2019).

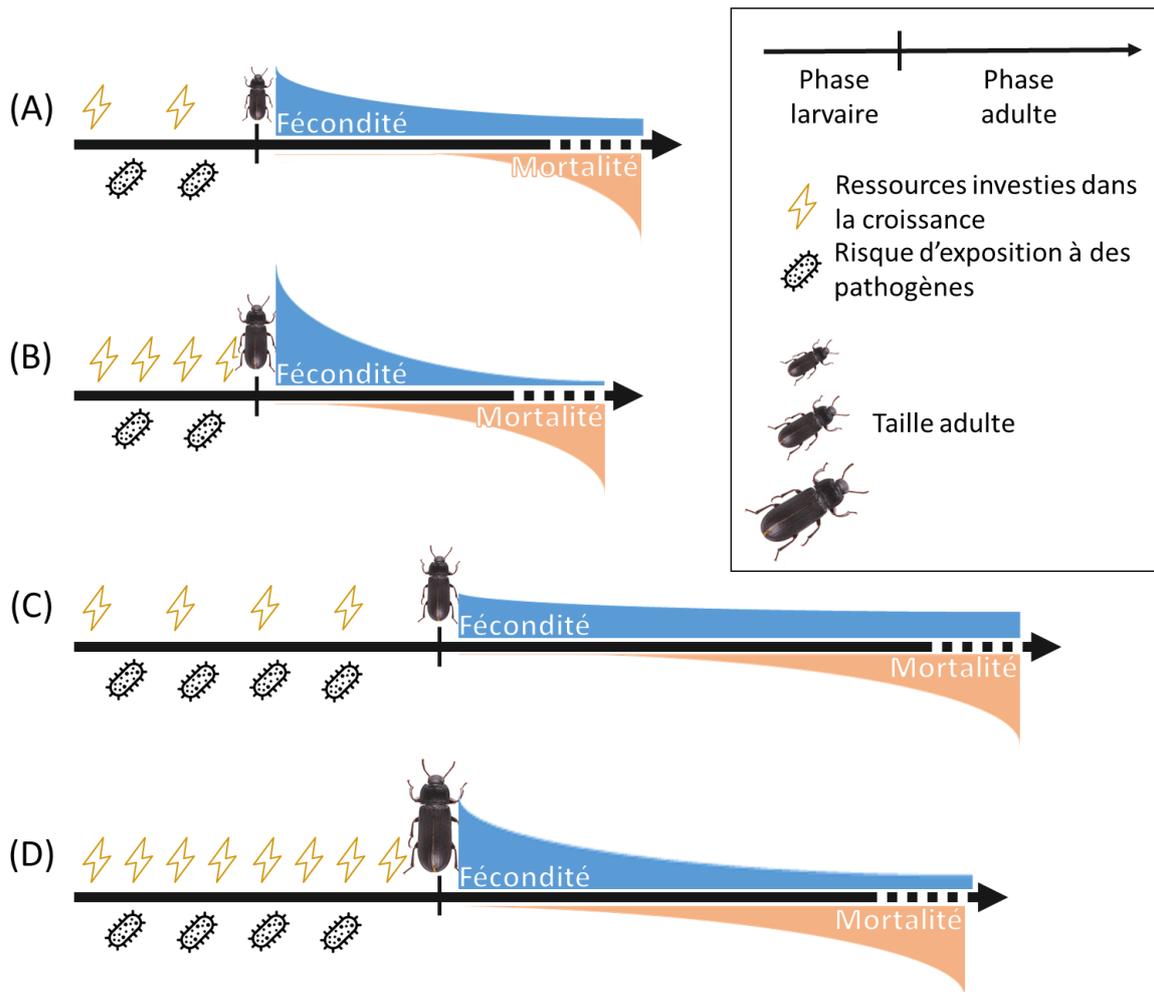


Figure I.5 : Schéma des hypothèses simplifiées de la sénescence reproductive et actuarielle de *T. molitor* en fonction de son temps de développement (durée de sa phase larvaire) et/ou de son taux de croissance (vitesse de la prise de masse pendant la phase larvaire, représenté par la densité d'éclair). Les cas, représentant la vie de quatre *T. molitor*, sont à comparer deux à deux en fonction de s'ils diffèrent pour le temps de développement ou le taux de développement. (A) et (B) ont des temps de développement similaires mais (B) a un taux de croissance plus élevé. Ainsi, (B) présente une taille adulte plus importante, lui octroyant un avantage en termes de pic de fertilité précoce. Mais, comparé à (A), sa fécondité et sa probabilité de survie diminuent plus rapidement avec l'âge. (C) et (D) diffèrent également par leur taux de croissance, (D) ayant un plus grand taux que (C). (D) est donc plus grand au stade adulte, lui octroyant une fécondité plus importante mais une diminution des probabilités de survie plus rapide. Les cas présentant des temps de développement larvaires différents pour un même taux de croissance (A)-(C) et (B)-(D) peuvent aussi être comparés. L'investissement dans le développement plus grand de (A) par rapport à (C) aurait comme coût une probabilité de survie et une fécondité qui décroît plus rapidement (mais avec un pic initial plus fort pour cette dernière). Les mêmes différences seraient prévisibles pour (B) par rapport à (D). L'investissement dans l'immunité dépendrait quant à elle, à la fois, négativement de l'investissement dans le développement ou la croissance, mais aussi des risques d'expositions aux pathogènes. Ces derniers dépendent (dans des environnements comparables) surtout du temps d'exposition potentiel, qui est donc plus grand quand le temps de développement est long, c'est-à-dire dans les cas (C) et (D). Dans ces cas, une immunité plus forte serait attendue (les différentes composantes de l'immunité, qui peuvent ne pas se comporter de la même manière, ne sont pas prises en compte sur ce schéma).

Une croissance plus rapide (c'est-à-dire un taux de croissance plus élevé), en tenant compte d'un temps de développement similaire (Figure I.5.A comparée à I.5.B et I.5.C comparée à I.5.D), devrait entraîner les mêmes inconvénients à long terme. Il est cependant possible que la plus grande taille adulte puisse offrir un avantage en terme de fécondité, au moins chez les femelles dont le nombre d'œufs pondus peut dépendre de la taille, notamment via un pic

précoce de fécondité plus intense. En termes d'immunité, le temps potentiel d'exposition aux agents pathogènes serait identique, mais l'investissement accru dans la croissance pourrait conduire à une immunité réduite, du moins pour les composantes les plus coûteuses en termes de ressources. En ce qui concerne la sénescence immunitaire, nous nous attendons à ce que les individus qui grandissent ou se développent le plus rapidement présentent une immunité décroissant plus tôt ou plus rapidement. Cependant, une analyse plus approfondie sera effectuée sur les différentes composantes de l'immunité qui pourraient ne pas vieillir de la même manière (Jehan *et al.*, 2022a).

Comme mentionné précédemment, l'étude des liens entre la croissance et la sénescence est sujette à de nombreux biais (Dmitriew, 2011 ; Metcalfe et Monaghan, 2003). Afin de tester les hypothèses et de consolider les conclusions, l'étude a été abordée avec deux approches complémentaires : une approche expérimentale et une approche corrélative.

Dans la première partie de cette thèse, l'étude de la sénescence reproductive et actuarielle, ainsi que les stratégies immunitaires de *T. molitor*, a été menée en **modifiant le temps de développement et/ou le taux de croissance via l'environnement larvaire**. Des larves ont été isolées et réparties dans trois conditions de température et dans trois conditions d'humidité relatives, connues pour altérer la durée de leur phase larvaire sans impact sur leur survie larvaire, jusqu'à la nymphose. **Une partie des adultes ainsi obtenus s'est reproduite deux fois au cours de leur vie adulte, une fois tôt et une fois plus tard, permettant de tester les hypothèses sur la sénescence reproductive chez les femelles. Cette question fait l'objet du premier chapitre de cette partie.** Les adultes ont également été suivis jusqu'à leur mort. **La relation entre leur survie, leur vitesse de développement et leur croissance, ainsi que les patrons de sénescence par groupe de conditions larvaires font l'objet du deuxième chapitre de cette partie.** Enfin, un second groupe d'adultes a été soumis à des mesures immunitaires avant et après un challenge avec une bactérie inactivée, lorsqu'ils étaient jeunes adultes ou plus âgés. **Cela a permis d'étudier l'investissement dans différentes composantes de l'immunité et leur sénescence en fonction du temps de développement, de la longévité, sujets exposés dans le troisième chapitre de cette partie.**

Dans la seconde partie de cette thèse, l'effet potentiellement négatif d'un développement et/ou d'une croissance rapides sur la sénescence reproductive, la longévité et la sénescence

actuarielle de *T. molitor* a été testée. Cette étude a porté sur quatorze lignées consanguines présentant une grande variabilité de temps de développement et de taux de croissance. Des larves de chaque lignée ont été isolées puis suivies tout au long de leur vie. Au stade adulte, la fécondité des femelles a été mesurée à deux reprises, une fois tôt dans leur vie d'adulte, au moment présumé de leur pic de fécondité, et une fois plus tard. Ces mesures ont permis d'étudier la sénescence reproductive en fonction du temps de développement ou du taux de croissance. Comme précédemment, les adultes ont été suivis jusqu'à leur mort, ce qui a permis d'examiner leur longévité en fonction de leur vitesse de développement et de croissance, ainsi que les patrons de sénescence actuarielle par lignée. Enfin, grâce à l'utilisation de ces lignées consanguines, **il a été possible d'analyser les corrélations génétiques entre différents traits d'histoire de vie, y compris des proxys de la sénescence reproductive et actuarielle.**

Enfin, les résultats obtenus dans ces deux parties seront confrontés aux hypothèses précédemment énoncées.

Partie 1 :

Influence de l'environnement larvaire sur la vitesse de développement et de croissance.

Conséquences sur les sénescences actuarielle, reproductive et immunitaire chez *Tenebrio molitor*

I – Introduction

Comme nous l'avons vu dans l'introduction générale de cette thèse¹⁷, la sénescence est le phénomène quasi-universel défini comme le déclin de l'organisme avec l'âge (Rose, 1991), notamment en terme de performance reproductive (sénescence reproductive), de probabilité de survie (sénescence actuarielle) et de capacité immunitaire (sénescence immunitaire). Ce phénomène a longtemps été un mystère en biologie (Medawar, 1952). Ni le « pourquoi », ni le « comment » de cette usure généralisée de l'organisme n'étaient expliqués avant le XX^{ème} siècle. Diverses hypothèses expliquant le « pourquoi » de la sénescence ont été proposées dès la première moitié du XX^{ème} siècle et théorisées plus précisément dans la seconde moitié de ce même siècle.

Les causes extrinsèques de mortalité comme les accidents, la prédation ou les maladies finissant toujours par avoir raison d'un être vivant avec le temps, la force de la sélection naturelle décroît avec l'âge (Fisher, 1930 ; Haldane, 1941 ; Williams, 1957 ; Hamilton, 1966). Cette diminution de la force de la sélection provoque une opposition entre le début de la vie, jusqu'à la reproduction, où cette sélection est très forte, et un âge plus avancé où la sélection devient faible (Williams, 1957 ; Kirkwood, 1977 ; Kirkwood et Holliday, 1979 ; Partridge et Gems, 2002). En cela, la sénescence ne serait qu'une conséquence de l'optimisation des traits d'histoire de vie de l'organisme (Kirkwood et Holliday, 1979 ; Partridge et Barton, 1993 ; Kirkwood, 2005). Les mécanismes proposés sont : i) une accumulation de dégâts qui, à terme, mène à la mort de l'organisme. La cause en serait un sous-investissement d'énergie et de ressources dans la prévention et la réparation au profit de la croissance, le développement et la reproduction. Ce mécanisme est proposé dans le cadre de la théorie du soma jetable (Kirkwood, 1977, 2005 ; Kirkwood et Holliday, 1979) ; ii) une non adéquation des processus de développement et de croissance, une fois la phase de développement passée qui finirait par induire des défaillances d'organes menant à la mort. Ce mécanisme est proposé dans la théorie développementale du vieillissement et la théorie de l'hyperfonction (de Magalhães et Church, 2005 ; Blagosklonny, 2012). Dans les deux cas, les fonctions principalement mises en opposition avec une réduction ou un retardement de la sénescence sont : la croissance, le

¹⁷ Cette introduction de la Partie 1 va reprendre certains points déjà abordés en introduction générale. Il y aura donc quelques redondances.

développement et la reproduction (Partridge et Gems, 2002 ; Drenos et Kirkwood, 2005 ; Rose *et al.*, 2012).

Les études mettant en évidence des compromis entre la reproduction précoce et les performances tardives, principalement en terme de survie, sont très nombreuses (Hughes et Reynolds, 2005 ; Ljubuncic et Reznick, 2009 ; Lemaître *et al.*, 2015 ; Maklakov et Immler, 2016). Néanmoins, le compromis entre reproduction et longévité n'est pas systématique (Partridge, Gems et Withers, 2005). Des variations dans la croissance et/ou le développement ont également été proposées comme expliquant des variations de sénescence (Ricklefs, 2006 ; Flatt, 2011; Maklakov et Immler, 2016 ; Flatt et Partridge, 2018). En effet, le taux de croissance d'un organisme (la prise de masse par unité de temps (van der Have et de Jong, 1996)) est rarement maximal et son temps de développement (le temps nécessaire pour la différenciation des cellules et tissus pour aboutir à un organisme adulte fonctionnel (van der Have et de Jong, 1996)) est rarement minimal (Dmitriew, 2011). Pourtant, grandir et/ou se développer rapidement présentent des avantages, notamment en terme de compétition pour la reproduction, de réduction de la vulnérabilité ou d'acquisition de réserves (Dmitriew, 2011 ; Metcalfe et Monaghan, 2003, 2001). Si une croissance ou un développement rapide présentent quelques coûts à court terme, c'est surtout ceux à long terme qui sont à prendre en compte (Dmitriew, 2011 ; Metcalfe et Monaghan, 2003, 2001). En effet, plusieurs des théories de la sénescence prévoient qu'une croissance et/ou un développement rapide induirait une sénescence accrue et/ou précoce. Néanmoins, les études testant cette relation restent rares et les biais liés aux méthodes utilisées pour modifier la vitesse de développement ou de croissance rendent nécessaire la multiplication des approches afin de consolider les conclusions (Dmitriew, 2011).

Dans cette première partie de thèse, afin de tester l'idée selon laquelle une vitesse de développement et/ou de croissance plus grande devrait s'accompagner d'une sénescence accrue et/ou précoce, le temps de développement et le taux de croissance (les deux ne pouvant être totalement découplés) de larves de *Tenebrio molitor* ont été modifiés par manipulation des conditions environnementales. La sénescence sera ici considérée sur trois aspects : la sénescence reproductive (chapitre 1), la sénescence actuarielle (chapitre 2) et la sénescence immunitaire (chapitre 3).

Les hypothèses sur la relation entre vitesse de développement et de croissance et la sénescence, comme présentées en détail dans la dernière partie de l'introduction générale, ne reposent pas sur les mêmes principes selon que l'on considère le temps de développement ou le taux de croissance. Dans les deux cas, une relation négative est prédite. En effet, un taux de croissance élevé et/ou un temps de développement court peuvent tous les deux nécessiter de forts investissements métaboliques qui entraîneraient un coût sous la forme de la sénescence. Cependant, le temps de développement peut aussi présenter un autre aspect qui est celui du temps d'exposition potentiel à des blessures ou des pathogènes. Ainsi, les effets du temps de développement et du taux de croissance seront testés indépendamment.

Les mécanismes de la sénescence évoqués plus haut reposent soit sur un compromis d'allocation d'énergie et de ressources (Kirkwood et Holliday, 1979), soit sur les processus de développement qui sont en partie liés à la quantité et la qualité des apports nutritionnels (de Magalhães et Church, 2005 ; Blagosklonny, 2012). En conséquence, nous n'avons pas choisi de moduler la quantité et/ou la qualité de la nourriture comme méthode de modification de la vitesse de développement et de croissance. La vitesse de développement et de croissance peut aussi être modifiée via la densité larvaire chez *T. molitor* (Weaver et McFarlane, 1990 ; Barnes et Siva-Jothy, 2000), mais cette méthode aurait eu plusieurs désavantages. D'abord, *T. molitor* étant une espèce cannibale, ne pas isoler les larves aurait entraîné des pertes d'effectifs, mais aussi une probable sélection des individus les plus rapides en termes de croissance. En effet, leur taille plus importante aurait pu les rendre plus à même de blesser ou manger leurs congénères plus petits. Mettre les larves en groupe, qui plus est avec des densités différentes, aurait pu induire des investissements différents dans l'immunité liés non pas au temps de développement, mais plus simplement à un effet prophylactique en réponse à la forte densité (Barnes et Siva-Jothy, 2000). Ainsi, pour cette étude, c'est la modification de conditions physiques lors de la phase larvaire qui a été privilégiée, en jouant sur des variations de température et d'humidité relative. Les larves de *T. molitor* peuvent supporter un large éventail de valeurs de température et d'humidité relative, mais les températures extrêmes (10°C ou moins et 35°C ou plus) peuvent augmenter la mortalité larvaire, en particulier lorsqu'elles agissent en interaction avec une faible humidité (Punzo et Mutchmor, 1980 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018). En conséquence, afin d'éviter de biaiser les résultats par une sélection des individus les plus résistants, les trois conditions de température et les trois

conditions d'humidité relative choisies ont été définies autour de l'optimum connu (24 ± 1 °C pour la température et 75 ± 5 % pour l'humidité relative ; Punzo et Mutchmor, 1980 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018), tout en ne s'en écartant pas trop. Compte tenu des effets autres que ceux sur le temps de développement et le taux de croissance possibles de chacune de ces modifications environnementales, elles seront analysées séparément avant d'être discutées ensemble.

Les différentes conditions de température et d'humidité relative ont effectivement conduit à des variations significatives en termes de temps de développement et de taux de croissance, permettant ainsi de tester des hypothèses sur la sénescence avec une plus grande diversité de valeurs que si une seule condition avait été utilisée. Les caractéristiques telles que le temps de développement, la masse nymphale, le taux de développement, la taille des adultes (estimée ici par la taille moyenne de leurs élytres) et la longévité des individus considérés sont présentés au début de chaque chapitre.

Dans le premier chapitre de cette partie, j'analyserai la sénescence reproductive des femelles *T. molitor* grâce à deux mesures du nombre d'œufs pondus, l'une précoce et l'autre tardive au cours de leur vie adulte. La prédiction faite à partir des théories de la sénescence est qu'un temps de développement court ou un taux de croissance élevé devrait être accompagné d'une plus forte sénescence reproductive, c'est-à-dire ici d'une plus grande différence entre les deux mesures de fécondité. Une sénescence reproductive a bien été identifiée chez les femelles de *T. molitor* avec un effet négatif du taux de croissance, comme attendu, mais pas d'effet du temps de développement. Cette sénescence reproductive accrue venait cependant principalement d'une forte fécondité précoce des femelles ayant grandi le plus rapidement, qui ne se maintenait pas tardivement.

Dans le deuxième chapitre, je présenterai les effets du temps de développement et du taux de croissance sur la survie au stade adulte de *T. molitor* et sur les patrons de sénescence actuarielle, par groupe de conditions environnementales larvaires. Des différences de sénescence actuarielle entre nos différentes conditions environnementales ont effectivement été constatées, mais elles n'ont pas pu être attribuées ni au temps de développement, ni au taux de croissance.

Enfin, dans le troisième et dernier chapitre de cette partie, je m'intéresserai à l'immunité de *T. molitor* en fonction de son temps de développement et de sa longévité. Cette partie est focalisée sur le temps de développement car, comme évoqué précédemment, celui-ci conditionne le temps d'exposition potentiel à des pathogènes lors de la phase larvaire, phase de plus grande vulnérabilité. Ce chapitre va également au-delà de la simple considération de l'immunité globale de *T. molitor*, car il examine trois composantes de cette immunité (les concentrations en plusieurs types d'hémocytes, l'activité du système proPO/PO, et l'activité des peptides antibactériens (Vigneron *et al.*, 2019)), connues pour ne pas avoir les mêmes temporalités de mise en place et de persistance d'action (Haine, Pollitt, *et al.*, 2008), et dont l'intensité et le vieillissement pourraient varier selon le rythme de vie de l'individu. Ainsi, si une baisse des différentes composantes immunitaires pourrait être attendue avec l'âge, celle-ci pourrait être différente chez les individus ayant grandi le plus lentement et risquant donc plus d'exposition à des pathogènes. En effet, ces individus pourraient davantage investir dans une protection à plus long terme, c'est-à-dire celle offerte par les peptides antibactériens (Haine, Moret, *et al.*, 2008 ; Haine, Pollitt, *et al.*, 2008 ; Vigneron *et al.*, 2019). Les résultats montrent effectivement une tendance inverse entre le système enzymatique proPO/PO (protection à court terme) et l'activité antibactérienne (protection à long terme) en fonction du temps de développement et de la longévité des *T. molitor*.

II – Matériel et méthodes

Tous les chapitres de cette partie sont issus d'une même expérience visant à modifier le développement et la croissance de *T. molitor* en modifiant les conditions de température ou d'humidité relative de son environnement larvaire. Je présente donc ici le matériel et méthodes global de cette approche. Certains éléments seront approfondis ou répétés dans les chapitres suivants. Les détails des analyses statistiques concernant les résultats des chapitres seront présentés uniquement dans ces derniers. Le sous-chapitre A du chapitre 1 et le chapitre 3 sont entièrement rédigés sous forme d'articles en anglais. Le premier article a été publié en août 2022 dans *Frontiers in Ecology and Evolution* et le second a été soumis à *Ageing and Immunity* en août 2023. Ainsi, ces deux articles contiennent un matériel et méthodes redondant avec celui de cette partie.

A – Origine des individus et conditions de développement larvaire

Les insectes expérimentaux proviennent d'un élevage maintenu en panmixie à l'université Bourgogne (Dijon). Des adultes vierges (150 femelles et 100 mâles), préalablement isolés à l'état de nymphes, âgés de 14 à 21 jours après leur émergence, ont été amenés à se reproduire pendant trois jours sur une litière de son de blé dans les conditions standard de l'élevage ($24 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 5\%$ d'humidité relative (HR) et dans l'obscurité). La période de reproduction de trois jours constitue un compromis entre l'obtention d'un nombre suffisant d'œufs et la précision de la date de ponte des individus expérimentaux. Une fois la période de reproduction terminée, les adultes ont été retirés, laissant les œufs dans la litière de son de blé et dans les conditions standard d'élevage pour leur éclosion et le début de leur développement larvaire. Après les quatre premières semaines de développement des larves, 900 d'entre elles, mesurant entre 0,8 et 1,2 cm (une taille à laquelle elles sont aisément manipulable sans risque pour elles), ont été isolées dans des boîtes contenant 10 compartiments (un compartiment : L 4,6 × l 3 × h 3 cm). Chaque insecte était placé individuellement dans un compartiment et a eu à sa disposition en quantité illimitée un mélange de son de blé et de nourriture pour poisson (JLB, Nova Malawi) dans un rapport de 9 : 1. Les boîtes ont été réparties aléatoirement et de façon équilibrée (180 larves par condition) entre cinq conditions de température et d'humidité relative :

- $20 \pm 1^\circ\text{C}$; $85 \pm 5\%$ HR (désignée comme **T20**)

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

- $24 \pm 1^\circ\text{C}$; $85 \pm 5\%$ HR (désignée comme **T24** et **H85**)
- $28 \pm 1^\circ\text{C}$; $85 \pm 5\%$ HR (désignée comme **T28**)
- $24 \pm 1^\circ\text{C}$; $55 \pm 5\%$ HR (désignée comme **H55**)
- $24 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 5\%$ HR (désignée comme **H70**)

Pour toutes les conditions, une obscurité permanente a été maintenue. Étant donné que deux types de modifications différentes de l'environnement larvaire ont été effectuées, les données issues de la modification de température larvaire et celles issues de la modification de l'humidité relative ont été traitées séparément, puis leurs résultats ont été mis en perspective afin de discuter de leurs implications relatives dans le cadre des hypothèses testées. Ainsi, la condition $24 \pm 1^\circ\text{C}$; $85 \pm 5\%$ HR est commune aux deux types de modifications des conditions larvaires. Elle sera donc désignée comme « T24 » dans le cadre de la modification de température larvaire et « H85 » dans le cadre de l'humidité relative. Ces conditions sont connues pour ne pas être délétères pour les larves mais elles modifient la durée de leur développement (Leclercq, 1948 ; Punzo et Mutchmor, 1980). Le choix d'utiliser des modifications des conditions physico-chimiques plutôt que de varier l'accès à la nourriture est justifié par le fait que des apports différents en nourriture, que ce soit en quantité ou en qualité, peuvent influencer la détection de compromis évolutifs (Cohen et al., 2019 ; Grafen, 1988 ; Holmes et al., 2019 ; Lindström, 1999 ; Metcalfe et Monaghan, 2003). Ils peuvent notamment entraîner des différences de qualité individuelle lorsqu'ils interviennent tôt dans la vie ou induire des phénomènes de rattrapage compensatoire de la croissance (Kecko et al., 2017 ; Metcalfe et Monaghan, 2001 ; Ziegelbecker et Sefc, 2021).

Étant donné notre intérêt pour l'étude de l'effet d'un développement et d'une croissance plus ou moins rapides sur la sénescence reproductive, actuarielle et immunitaire, les larves, isolées et réparties dans les différentes conditions environnementales (T20, T28, H55, H70 et T24/H85), ont été réparties en trois groupes. Sur les 180 larves utilisées par condition, 60 ont été destinées aux mesures de performances reproductives précoces et tardives au cours de leur vie adulte, ainsi qu'aux mesures de survie. Soixante ont été destinées aux mesures immunitaires au début de leur vie adulte, tandis que les 60 restantes ont été réservées aux mesures immunitaires plus tard dans leur vie adulte. En effet, toutes les mesures ne pouvaient pas être réalisées sur les mêmes individus, car les mesures immunitaires nécessitent des prélèvements d'hémolymphe qui, bien que non létaux, sont invasifs et auraient pu influencer

les autres mesures. De la même manière, le fait de soumettre les insectes à des périodes de reproduction afin d'estimer leur sénescence reproductive pourrait avoir un impact sur leur immunité (Jehan et al., 2021 ; Schwenke et al., 2016). Cet effet aurait été d'autant plus difficile à contrôler, étant donné que l'effort reproductif entre les individus n'est pas standardisable.

B – Mesures au cours de la vie des individus

Les temps de développement larvaires des individus expérimentaux ont été obtenus à partir d'un suivi bihebdomadaire des larves jusqu'à leur nymphose. Une fois que les individus ont atteint le stade nymphal, ils ont été pesés à l'aide d'une balance OHAUS Discovery DV114C (précision : 0,1 mg), puis tous replacés en « jardin commun » dans les conditions standard d'élevage ($24 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 5\%$ HR). La masse nymphale mesurée a été utilisée pour le calcul du taux de croissance des individus, défini comme le rapport entre la masse nymphale et la durée du développement larvaire. Ce taux de croissance représente donc la prise de masse quotidienne, en considérant que la masse initiale des larves était négligeable par rapport à celle des nymphes. Les nymphes ont été observées deux fois par semaine jusqu'à leur émergence. Les adultes obtenus, toujours maintenus dans les conditions standard d'élevage, ont été sexés. Ils ont été nourris avec le même mélange en ratio 9 : 1 de son de blé et de nourriture pour poissons, avec en plus un cube de pomme (environ 4 mm de côté) fourni une fois par semaine comme source d'eau et de sucre. En dehors des manipulations pour les mesures de reproduction et d'immunité, les adultes ont été suivis chaque semaine afin de déterminer la date de leur mort. Les individus morts ont été congelés en vue de mesures ultérieures de la longueur de leurs élytres, effectuées à l'aide d'un stéréo microscope Nikon SMZ 1500, associé au logiciel NIS Elements AR (version 4.00.03). Dans les analyses impliquant la taille des élytres, la mesure utilisée a été la moyenne des longueurs des deux élytres lorsque les deux étaient en suffisamment bon état ou, à défaut, de la longueur de l'élytre en meilleur état.

C – Reproduction précoce ou tardive

Afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle une sénescence reproductive plus rapide ou plus importante survient chez les individus ayant eu un développement et/ou une croissance plus rapides (temps de développement faible et/ou taux de croissance fort), la fécondité des

femelles adultes, parmi un total de 300 individus (60 individus par condition environnementale larvaire et 5 conditions environnementales), a été mesurée à deux périodes distinctes de leur vie adulte. La mesure consistait en un comptage des œufs pondus au cours de ces périodes. Les mâles n'ont pas été considérés dans les analyses traitant de la reproduction. En effet, le nombre d'œufs pondus par une femelle accouplée avec un de nos mâles expérimentaux aurait constitué une mesure très indirecte de la fécondité de celui-ci (Jehan *et al.*, 2020). D'autres types de mesures, comme le nombre d'accouplements ou la taille du spermatophore auraient été nécessaires pour évaluer la fécondité des mâles. Cependant, étant donné l'ampleur de cette expérience, il était préférable de se concentrer exclusivement sur les femelles. Pour permettre des analyses sur la longévité et la sénescence actuarielle avec les deux sexes, les mâles ont tout de même été soumis à deux périodes de reproduction, comme les femelles.

La première période de reproduction (désignée comme « précocité » en français ou « *early* » en anglais pour le sous-chapitre A du chapitre 1) a eu lieu entre 10 et 20 jours après l'émergence, tandis que la seconde (dite « tardive » ou « *late* » en anglais) s'est déroulée entre 40 et 50 jours après l'émergence. La première période coïncide avec le pic de fertilité des femelles (Jehan *et al.*, 2020), tandis que la seconde correspond à un âge où la fertilité diminue déjà en raison de la sénescence, mais où la mortalité est encore faible. Ce dernier point m'a permis de minimiser l'impact de la disparition sélective sur les résultats.

Lors de chaque période de reproduction, les insectes étaient pesés, puis appariés au hasard avec un partenaire vierge du sexe opposé provenant de l'élevage et âgé d'environ 10 à 20 jours. Les partenaires étaient différents lors des deux périodes de reproduction. L'individu expérimental et son partenaire étaient placés dans une boîte de Pétri (diamètre = 90 mm) dont le fond était recouvert de farine blanche. Les boîtes contenaient également un tube d'eau bouché d'un coton humidifié, un morceau de papier absorbant et un cube de pomme (d'environ 4 mm de côté). Comme les adultes peuvent parfois consommer leurs œufs et que ces derniers peuvent éclore en moins de 10 jours, les couples étaient transférés dans de nouvelles boîtes de Pétri, préparées, de la même manière, au milieu de la période de reproduction. À la fin des 10 jours de chaque période de reproduction, les individus étaient à nouveau isolés dans les mêmes conditions qu'avant la reproduction. Une fois les insectes retirés, la farine des boîtes était tamisée (tamis de 200 μ m) afin de compter les œufs. À partir

de ces comptages d'œufs, la fécondité totale des femelles correspondant à l'addition des nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction a été calculée :

$$\text{Fécondité totale} = R_{\text{précoce}} + R_{\text{tardive}}$$

avec $R_{\text{précoce}}$, le nombre d'œufs obtenu suite à la période de reproduction précoce et R_{tardive} , celui obtenu suite à la période de reproduction tardive. Afin d'étudier la sénescence reproductive, un indice de sénescence reproductive a également été calculé à partir du rapport entre la différence d'œufs produit lors des deux périodes de reproduction et de la fécondité totale :

$$\text{Indice de sénescence reproductive} = \frac{R_{\text{tardive}} - R_{\text{précoce}}}{R_{\text{précoce}} + R_{\text{tardive}}}$$

Le numérateur correspondant à $R_{\text{tardive}} - R_{\text{précoce}}$, plus l'indice est petit, plus la sénescence est marquée entre la période de reproduction précoce et tardive, indiquant ainsi une diminution des performances reproductives entre les deux périodes.

Il est à noter que ces calculs et les analyses les utilisant ont été réalisés uniquement sur les femelles ayant survécu suffisamment longtemps pour accomplir les deux périodes de reproduction, sans rencontrer de problèmes au cours de celles-ci (par exemple : la mort du partenaire, des blessures, etc.).

Les résultats de ces mesures sont présentés dans le chapitre 1 de cette partie. Les effectifs de nymphes et d'adultes obtenus, ainsi que les effectifs sur lesquels les analyses ont pu être effectuées pour les analyses sur la sénescence reproductive (c'est-à-dire les femelles ayant réalisé les deux périodes de reproduction), sont répertoriés dans le Tableau P1.1. Il est à noter que ces individus, y compris les mâles, ont également servi aux analyses relatives à la longévité et à la sénescence actuarielle (Chapitre 2 de cette partie).

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

Tableau P1.1 : Nombre d'individus expérimentaux obtenus à chaque stade de développement et pour chaque condition environnementale larvaire, destinés aux mesures de performances reproductives précoces ou tardives, ainsi qu'aux mesures de survie.

	Larves	Nymphe	Adultes	Femelles adultes	Mâles adultes	Femelles utilisées pour les analyses
H55	60	58	58	32	26	28
H70	60	59	59	29	30	28
T20	60	60	60	35	25	32
T24/H85	60	60	59	33	26	30
T28	60	60	60	23	37	23

D – Mesures immunitaires

Pour tester l'hypothèse selon laquelle la sénescence immunitaire est plus rapide ou plus forte chez les individus ayant eu un développement et/ou une croissance rapides (temps de développement plus petit et/ou taux de croissance fort), plusieurs mesures de performance immunitaire ont été réalisées à partir d'échantillons d'hémolymphe prélevés avant un challenge immunitaire, puis 3 jours après ce challenge, chez des individus jeunes (dénommés « *young* » dans le chapitre 3), âgés d'environ 16 jours après l'émergence, ou chez des individus plus âgés (dénommés « *old* » dans le chapitre 3), âgés d'environ 45 jours après l'émergence. Trois cent larves (60 larves par condition environnementale larvaire) ont été dédiées à ces mesures immunitaires au stade de « jeunes adultes » et 300 larves (60 par condition environnementale larvaire) ont été réservées aux mesures au stade plus âgé.

Les paramètres immunitaires mesurés avant et 3 jours après un challenge immunitaire comprenaient :

- Les concentrations de trois types d'hémocytes : les granulocytes, les plasmotocytes et les prohémoocytes (il convient de noter qu'un quatrième type d'hémocytes, les œnocytes, a été dénombré mais trouvé chez très peu d'individus et en faible quantité et donc, non considéré lors des analyses).
- La concentration en hémocytes totaux, qui correspond à la somme de toutes les catégories susnommées.
- L'activité de la phénoloxydase totale (PO totale), comprenant l'activité de la fraction inactive de l'enzyme (prophénoloxydase ou proPO) et la fraction active de l'enzyme (phénoloxydase ou PO).

- L'activité de la PO, c'est-à-dire seulement la fraction active de l'enzyme.
- L'activité antibactérienne de l'hémolymphe.

Le délai de trois jours entre le challenge immunitaire et le second prélèvement d'hémolymphe constitue un compromis qui tient compte des différentes cinétiques de réponse des paramètres immunitaires mesurés (Moret et Siva-Jothy, 2003 ; Haine, Moret, *et al.*, 2008 ; Haine, Pollitt, *et al.*, 2008), permettant ainsi d'évaluer la réponse sur les trois composantes de l'immunité. En effet, ces trois composantes de l'immunité n'atteignent pas leur pic d'activité au même moment. L'activité antibactérienne, en particulier, met un peu plus de temps à se mettre en place. Les protocoles de mesure de ces paramètres, adaptés de Jehan *et al.* (2020), Moret (2006) et Zanchi *et al.* (2011) sont décrits dans les paragraphes suivants.

1 – Challenge immunitaire

Le challenge immunitaire consiste en l'injection de 5 μL d'une solution de *Bacillus cereus* inactivé. La souche de *B. cereus* provient de l'Institut Pasteur (CIP69.12). Les méthodes de culture bactérienne, de préparation de la solution de *B. cereus* inactivé et son injection sont similaires à celles décrites par Jehan *et al.* (2020). La culture bactérienne a été effectuée dans un milieu de culture LB liquide (10 g de bacto-tryptone, 5 g de d'extrait de levure, 10 g NaCl dans 1000 mL d'eau distillée, le pH étant ajusté à 7) à 28°C pendant 12h. Les bactéries ont été inactivées dans une solution de formaldéhyde/PBS à 0,5%, puis rincées trois fois au PBS avant d'ajuster leur concentration à 10^8 cellules/mL. La concentration était déterminée via un comptage sous microscope avec une cellule de comptage Neubauer-Improved. Un échantillon de la solution de *B. cereus* inactivé a été mis en culture par étalement sur un milieu de culture LB avec 1% d'agar à 28°C pendant 24 heures afin de vérifier que les bactéries étaient bien mortes. La solution à 10^8 cellules/mL a été partagée en aliquots et stockée à -20°C avant leur utilisation. Lors du challenge immunitaire, 5 μL de la solution de *B. cereus* inactivé ont été injectés dans l'abdomen des insectes à l'aide d'un capillaire en verre stérile dont la pointe avait été finement étirée à l'aide d'une étireuse à capillaire (Narashige PC-10) pour en faire une aiguille.

2 – Prélèvements d'hémolymphe et mesures immunitaires

Avant chaque prélèvement d'hémolymphe, les insectes étaient placés individuellement dans des tubes à centrifugation de 2 mL sur de la glace pendant environ 5 minutes. Une petite

incision était ensuite pratiquée dans la membrane entre le thorax et l'abdomen des insectes pour collecter l'hémolymphe qui s'écoulait de la blessure. Deux prélèvements de 6 μL ont été effectués sur chaque insecte, un avant le challenge immunitaire et un trois jours après. Ces échantillons d'hémolymphe ont été répartis entre les différentes analyses immédiatement après prélèvement.

Parmi les 6 μL d'hémolymphe prélevée, 3 μL ont été dilués dans 15 μL d'une solution anticoagulante (Lee *et al.*, 1999). Ensuite, 10 μL de ce mélange ont été placés sur une cellule de comptage Neubauer-Improved sous un microscope à contraste de phase ($\times 400$) afin de mesurer la concentration d'hémocytes. Suite au dénombrement des hémocytes, la concentration totale d'hémocytes a été calculée, ainsi que celles des 4 types majeurs d'hémocytes de *T. molitor*, à savoir les granulocytes, les plasmatocytes, les prohémocytes et les œnocytoïdes (Chung et Moon, 2004 ; Urbański, Adamski et Rosiński, 2018 ; Vigneron *et al.*, 2019). Les identifications ont été réalisées conformément aux descriptions fournies par Urbański *et al.* (2018).

Les autres 3 μL des prélèvements d'hémolymphe ont été dilués dans 20 μL de PBS, puis répartis pour mesurer l'activité antibactérienne et les activités de la PO et de la PO totale. Pour mesurer l'activité antibactérienne, 5 μL de cette dilution ont été transférés dans un tube dont le fond était recouvert de N-phenylthiourea, ce qui a permis de bloquer la mélanisation lors des mesures d'activité antibactérienne. Ce sous-échantillon et les 18 μL restants (conservés dans le tube sans N-phenylthiourea) ont été immédiatement congelés dans de l'azote liquide et conservés à -80°C en vue de leur utilisation future.

Conformément à la méthode décrite par Moret *et al.* (2006), l'activité antibactérienne de l'hémolymphe a été mesurée avec un test de zone d'inhibition. Cette mesure consiste à déterminer si un échantillon d'hémolymphe peut prévenir la croissance de la bactérie *Arthrobacter globiformis* (Institut Pasteur CIP105365), une bactérie connue pour sa sensibilité aux peptides antimicrobiens, dans un milieu approprié. Pour ce faire, la bactérie a été cultivée 12 heures dans un milieu LB liquide puis elle a été incorporée dans un milieu contenant 1% d'agar bactérien. La concentration finale du mélange bactérien a été ajustée à 10^6 cellules/mL. Ce mélange était coulé dans des boîtes de Pétri (D = 90 mm) à raison de 10 mL par boîte. Pendant la solidification du milieu, 14 puits de 2 mm de profondeur étaient formés à l'aide d'un système d'emporte-pièces *ad-hoc* spécialement conçu pour notre expérience. Pour

chaque boîte, douze de ces puits ont reçu 2 µL d'échantillon d'hémolymphe, tandis que les deux derniers servaient de témoins, l'un étant positif (recevant 2 µL d'une dilution 1/150 dans du PBS d'une solution mère de 5 mg/mL de tétracycline dans de l'alcool absolu, Sigma-Aldrich T3383), et l'autre négatif (2 µL de PBS 1X). Pour être déposés dans les puits, les échantillons stockés à -80°C dans des tubes ont été placés sur de la glace afin de les faire fondre sans dégrader les composants de l'hémolymphe, puis 2 µL de chaque échantillon ont été déposés dans un puit. Après 48 heures d'incubation à 28°C, la présence ou l'absence de zone d'inhibition autour des puits ainsi que leurs diamètres étaient mesurés. Afin de corriger pour la variation entre les boîtes, les diamètres des zones d'inhibition ont été normalisés en utilisant le rapport entre le plus grand diamètre d'inhibition d'un témoin positif, toutes boîtes confondues ($\max(\text{Diamètre}_+)$) et le diamètre du témoin positif de chaque boîte ($\text{Diamètre}_{+ \text{boîte}}$). Ainsi, le diamètre corrigé était calculé avec la formule :

$$\text{Diamètre}_{\text{échantillon corrigé}} = \text{Diamètre}_{\text{échantillon}} \times \frac{\max(\text{Diamètre}_+)}{\text{Diamètre}_{+ \text{boîte}}}$$

Pour chaque échantillon d'hémolymphe, l'activité de la phénoloxydase (PO) naturellement active, ainsi que l'activité totale du système enzymatique de la phénoloxydase (PO totale), incluant la PO et la prophénoloxydase (proPO), ont été mesurées par spectrophotométrie conformément à la méthode décrite par Zanchi *et al.* (2011). Les tubes contenant les 18 µL d'hémolymphe dilués dans du PBS et stockés à -80°C ont été placés sur de la glace pour fondre sans dégrader les échantillons avant d'être centrifugés (3500g, 5 minutes à 4°C). Deux fois 5 µL de surnageant ont été prélevés par échantillon. Ces 5 µL ont été déposés dans des puits de microplaque à 96 puits contenant 20 µL de PBS. Dans l'un des deux puits, 140 µL d'eau distillée ont été ajoutés pour mesurer l'activité de la PO seule. Dans l'autre, 140 µL d'une solution de chymotrypsine (Sigma-Aldrich C7762, 0,07 mg/mL dans de l'eau distillée), permettant d'activer la proPO, ont été ajoutés pour mesurer la PO totale. Juste avant de placer la microplaque dans le lecteur du spectromètre (Molecular Devices, SpectraMax iD3), 20 µL de L-Dopa (Sigma-Aldrich D9628, 4mg/mL dans de l'eau distillée) ont été ajoutés dans chaque puits. L'absorbance à 490nm du mélange augmentant à mesure que la L-Dopa était convertie en dopachrome par l'activité de la PO, a été mesurée pendant 40 minutes à 30°C, avec des mesures effectuées toutes les 36 secondes. La courbe d'absorbance de chaque puits a ensuite été analysée en utilisant le logiciel SoftMax Pro 7.1.2 (Molecular Devices). L'activité

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

enzymatique correspondait à la pente de la phase linéaire de la réaction (V_{max}), correspondant à une augmentation d'absorbance par minute. Cette valeur a été rapportée à 1 μ L d'hémolymphe pure pour obtenir une estimation de la concentration en PO ou en PO totale.

Les analyses des mesures de concentrations hémocytaires, d'activité antibactérienne et d'activité enzymatique de l'hémolymphe de *T. molitor* font l'objet du chapitre 3 de cette partie. Les effectifs de nymphes et d'adultes obtenus, ainsi que les effectifs sur lesquels les analyses ont pu être effectuées pour la sénescence immunitaire, c'est-à-dire les individus sur lesquels j'ai obtenu toutes les mesures immunitaires avant et après un challenge immunitaire, sont présentés dans le Tableau P1.2.

Tableau P1.2 : Nombre d'individus expérimentaux obtenus à chaque stade de développement et pour chaque condition environnementale larvaire à partir des larves destinées aux mesures d'immunité (A) tôt et (B) plus tard dans leur vie d'adulte.

(A) Mesure d'immunité précoce

	Larves	Nymphe	Adultes	Individus disponibles pour les analyses
H55	60	58	57	46
H70	60	60	60	44
T20	60	60	59	51
T24/H85	60	60	57	48
T28	60	59	59	53

(B) Mesure d'immunité tardive

	Larves	Nymphe	Adultes	Individus disponibles pour les analyses
H55	60	57	56	49
H70	60	60	60	45
T20	60	59	59	52
T24/H85	60	60	60	48
T28	60	59	60	48

III – Chapitre 1 : Influence de l’environnement larvaire sur la croissance et la sénescence reproductive

Dans ce chapitre, l’hypothèse selon laquelle un investissement fort dans la croissance et/ou le développement a une influence négative sur la sénescence reproductive est testée. L’investissement dans la croissance est modulé par des variations des conditions larvaires de température et d’humidité relative différentes. Les performances reproductives n’ont été estimées que chez les femelles par le nombre d’œufs pondus pendant leur pic présumé de fécondité, dix à vingt jours après le début de leur phase adulte, et plus tard, entre 40 et 50 jours post-émergence. Cette dernière période a lieu après le début des baisses de performances reproductives (Dick, 1937 ; Drnevich *et al.*, 2001 ; Jehan *et al.*, 2021) mais avant la hausse de la mortalité (Jehan *et al.*, 2021), évitant ainsi le phénomène de disparition sélective qui pourrait compliquer ou fausser l’interprétation des résultats.

Ce chapitre se divise en deux parties principales. Dans un premier temps (sous-chapitre A), je m’intéresse à l’influence du **taux de croissance** sur la sénescence reproductive des insectes qui ont grandi dans différentes conditions d’humidité relative. Ce sous-chapitre A a fait l’objet d’un article publié dans *Frontiers in Ecology and Evolution* intitulé « *“Born with a silver spoon in the mouth has bad sides too”: experimentally increasing growth rate enhances individual quality but accelerates reproductive senescence in females of the mealworm beetle, Tenebrio molitor* ». Elle est retranscrite telle que publiée et est donc en anglais. Un complément aux analyses présentées dans cet article est proposé en supplément (sous-chapitre B), qui concerne l’influence du **temps de développement** sur la sénescence reproductive des mêmes individus.

Les mêmes types d’analyse ont été ensuite faites sur des insectes dont le développement et la croissance ont été modifiés cette fois-ci via des températures larvaires différentes. Ces analyses sont présentées dans le sous-chapitre C.

Les résultats spécifiques de chaque type de perturbation sont discutés dans chacune des parties, puis remis en perspective les uns par rapport aux autres, à la lumière de des hypothèses formulées.

A – “Born with a silver spoon in the mouth has bad sides too”:
experimentally increasing growth rate enhances individual quality
but accelerates reproductive senescence in females of the mealworm
beetle, *Tenebrio molitor*

Par **Crosland, A., Rigaud, T., Balourdet, A., & Moret, Y. (2022)**. Publié dans *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 915054. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.915054>

1 – Abstract

Senescence occurs because of the decline of the strength of selection with age, allowing late-life reduced performances not being counter selected. From there, several phenomena may explain late-life reduced performances, such as the accumulation of deleterious mutations, the expression of pleiotropic genes or the existence of resource trade-offs between early and late performances. This latter phenomenon is at the core of the disposable soma theory of ageing, which predicts that growth and early-life reproduction have costs that increase reproductive and actuarial senescence. Whereas the impact of the cost of early reproduction on reproductive and actuarial senescence has been extensively studied, that of the cost of growth remains overlooked and often inconclusive, possibly because of confounding effects associated with the procedures used to manipulate growth rate. Here, we investigated the cost of growth rate and its impact on reproductive senescence and longevity of females of the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. For this purpose, we generated insects with contrasted growth rates by raising groups of them in conditions below, above and optimal relative humidity (RH: 55%, 85% and 70%, respectively) during the larval stage. The resulting adult females then bred, under the same optimal RH conditions, early in life, then later in life and were followed there until death. We found that larvae grown under the highest relative humidity exhibited the highest larval growth rate, thanks to both shorter growth duration and the achievement of heavier pupae mass. Adult females from this favorable growing condition lived longer, were more fecund early in life, but suffered from lower late-life reproductive investment. Our study shows that growth rate, which is highly dependent on the early-life environment, is an important factor modulating adult reproductive senescence, through the occurrence of early-late life trade-offs.

Keywords: ageing, cost of growth, disposable soma theory, experimental manipulation, reproductive investment, longevity, holometabolous insect.

2 – Introduction

Senescence (or ageing) is a quasi-universal phenomenon in multicellular organisms, defined by the age-related decrease of life-history features related to individual fitness, mainly survival and reproduction. This phenomenon is nevertheless variable both within and among species (Jones *et al.*, 2014; Flatt and Partridge, 2018). Evolution of ageing occurs because the strength of age-specific selection, which is maximal during pre-reproductive development, declines after sexual maturation with advancing adult age (Medawar, 1952; Williams, 1957; Hamilton, 1966; Moorad, Promislow and Silvertown, 2019). Although this decrease of selection with age and the supposed accompanying aging is not an universal rule (Baudisch, 2005; Jones *et al.*, 2014; Wensink, Caswell and Baudisch, 2017), it seems accurate for organisms with finite growth, an age structure and well-defined somatic and germline lines (Charlesworth, 2000). In this context, the antagonistic pleiotropy theory of ageing proposes that the expression of genes having early-life beneficial effects will be selected even if they cause deleterious effects later in life (Williams, 1957). Such a trade-off between early and late-life performances is also central to the disposable soma theory of ageing (Kirkwood, 1977), which may represent a physiological explanation of the antagonistic pleiotropy theory (Lemaître *et al.*, 2015; Maklakov and Chapman, 2019). The disposable soma theory of ageing predicts that, as resource demands for growth or reproduction are high, organisms have reduced options to maintain their own body condition, thereby increasing senescence and reducing future fertility and survival through physiological costs incurred. Therefore, individuals should optimize their allocation of resources between growth, reproduction and somatic maintenance according to their average lifespan or the risk of environmental mortality.

A large number of studies have attempted to challenge the predictions of a trade-off between early-life and late-life performances, through laboratory experiments and field longitudinal studies (Partridge, Prowse and Pignatelli, 1999; Metcalfe and Monaghan, 2003; Lee, Monaghan and Metcalfe, 2013; Lemaître *et al.*, 2015). While there is ample evidence suggesting that strong investment in early reproduction is associated with increased rates of reproductive or actuarial senescence (with differences between sexes, e.g. Jehan *et al.*, 2020;

Lemaître et al., 2015), evidence of trade-offs between growth and late-life fitness traits is relatively scarce and controversial. Individuals may draw considerable benefits from rapid growth, as reaching adult size in a minimum of time reduces vulnerability to environmental disturbances and predators while facilitating early entry into reproduction (Dmitriew, 2011). Nevertheless, individual growth has been found rarely maximal even when resource availability is unlimited, suggesting that higher growth rates (enabled by either a fast growth or large adult size) is costly (Metcalfé and Monaghan, 2003). To date, interactions between growth processes and senescence remain scarcely explored. For instance, in the three-spined stickleback, fast-growing individuals exhibit shorter longevity, suggesting that enhanced resource allocation to body development early in life increases actuarial senescence (Lee, Monaghan and Metcalfe, 2013). In the damselfly *Lestes viridis*, experimentally-induced rapid larval development (but not growth rate) reduces adult life span by increasing oxidative damage (Janssens and Stoks, 2018). Other studies failed to detect such early-late life trade-offs. This is the case of a study comparing two ecotypes of the snake, *Thamnophis elegans*, characterized by a contrasted pace of life (fast versus slow living pace of life) (Sparkman, Arnold and Bronikowski, 2007). However, the incomplete knowledge of the environmental conditions experienced early in life by the two ecotypes and the fact that snakes are growing continuously may have prevented the evidence of such a trade-off. In another study, the growth rate of males of the antler fly, *Protopiophila litigata*, was altered by the experimental manipulation of the larval diet, generating variation in development time, which was positively correlated with lifetime mating rate but not with reproductive senescence (Angell et al., 2020). As a result, more research is needed into the early-late trade-off between growth rate and early reproductive success, as well as their respective impacts on late-life reproductive success and senescence. Our study intends to elucidate these relationships by changing growth rate experimentally.

Modifying the amount of food or the quality of the diet provided to juveniles in order to manipulate growth is a priori reasonable, as the expression of trade-off is often dependent on resource availability (Metcalfé and Monaghan, 2003; Cohen et al., 2019). Nevertheless, this approach may have several drawbacks when confronted with the phenomenon of compensatory growth after periods of starvation (e.g. Kecko et al., 2017; Metcalfe and Monaghan, 2003; Ziegelbecker and Sefc, 2021), or when ageing does not depend on early diet

(Zajitschek *et al.*, 2009), leading to contradictory or inconclusive results. Moreover, increasing growth rate by setting highly favorable conditions may generate individuals with a higher fitness, called the “silver spoon” effect (Grafen, 1988; Lindström, 1999; Monaghan, 2008), which may prevent detection of senescence (Angell *et al.*, 2020). There is therefore a need to explore further the early-late trade-off between growth rate and reproductive senescence using experimental approaches a priori avoiding resource alteration during growth to manipulate growth rate. We propose here to study this relationship using a biological model where pre-adult growth can be easily discriminated against (holometabolous insect, where immature stages are strictly different from the sexually mature stage), can be manipulated independently of the diet, and for which experimental conditions are close to those of “field” conditions, to circumvent the problem of field-laboratory differences (Metcalf and Monaghan, 2003).

This biological model is the mealworm beetle *Tenebrio molitor*. This insect “naturally” lives in stored grain product installations, in which it is considered as a pest. This insect is also attracting considerable interest for its cultivation as a source of food and feed, leading to the development of mass rearing installations (Ribeiro, Abelho and Costa, 2018; van Huis, 2021). Living conditions of this insect in the laboratory and “natural” conditions are therefore less different from most other species. Moreover, this insect species seems to fit the preconditions of the disposable soma theory such as finite growth, age structure, and well-separated somatic and germline lines (Charlesworth, 2000). Under the conditions considered to be the most favorable (about 75% RH and 25°C (Punzo and Mutchmor, 1980)), larvae are taken about 17 weeks to reach the pupal stage, this latter stage lasts about ten days (Crosland, personal observations). Adults emerging from pupae can live for several months and do not grow anymore. Individuals are fertile throughout their adult life and this from their fifth day post-eclosion at the earliest. Females exhibit a peak of fertility from day 10 to 20 post-eclosion, which subsequently decreases until death (Dick, 1937; Jehan *et al.*, 2020). To modify the growth rate of *T. molitor*, we adjusted the relative humidity during its larval development. Relative humidity has already been shown to influence growth duration and adult mass (Leclercq, 1948). Humidity might mediate food absorption and metabolism, independently of the amount or the quality of food provided (Hardouin and Mahoux, 2003; Ribeiro, Abelho and

Costa, 2018). Three relative humidity levels (55%, 75% and 85% RH) were used, reported to be non-detrimental to larval survival (Punzo and Mutchmor, 1980).

We first controlled for the success of the modification of larval growth rate by this process: the higher the relative humidity in the larval environment, the faster the larvae developed and the larger the animals were. Females from larvae reared in these contrasted conditions showed differences in survival (longer longevity in adults from larvae grown at 85% RH). The females that had the higher developmental rate were also those that exhibited a higher fecundity early in life, but not late in life. The trade-off between high early developmental rate and reproductive senescence was demonstrated only in the condition where growth rate was higher (exceeding 1 mg/day).

3 - Material and Methods

a – Insect culture and larval environmental conditions

Age-controlled experimental larvae were obtained among the progeny of insects from an outbred stock culture (150 females and 100 males of about 14 to 21 days post-eclosion) kept together for 3 days in a plastic tank (L 56.5 × l 36.5 × h 15 cm) with bran flour in standard laboratory conditions ($24 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ RH and in permanent darkness). When the larvae had reached 4 weeks old (size from 0.8 to 1.2 cm), 180 of them were isolated and haphazardly distributed into three relative humidity conditions: $55 \pm 5\%$, $70 \pm 5\%$ and $85 \pm 5\%$ (designated as larval RH thereafter). For all these three conditions, the temperature was set at $24.5 \pm 2^\circ\text{C}$ and the larvae were supplied *ad libitum* with a 9:1 mix of bran flour:fish food (JLB, Novo Malawi). After pupation, all individuals were transferred, still isolated, at $24.5 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ RH and in permanent darkness. Therefore, only larval development was under different environmental conditions to manipulate growth rates only.

b – Growth duration and survival

Isolated larvae were observed twice a week until pupation. Development time (or growth duration) was considered from the egg laying date (estimated as the median date of the 3-day period during which their parents reproduced) to the date of pupation. Pupae were weighed (OHAUS Discovery DV114C balance, $d = 0.1\text{mg}$) to determine their growth rate, which was calculated as the ratio of pupal mass (in mg) to growth duration (in days) from the egg laying

date, when body mass was assumed to be null. Because the larvae were kept in the same environment (same tank) before being haphazardly assigned to their respective RH treatments, they were not supposed to have a distinct body mass. After pupation, all individuals were transferred at $24.5 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ RH and in permanent darkness. Pupae were observed twice a week until eclosion. New-born adults were weighed and sexed. After eclosion, individuals were maintained in the same environmental condition as were the pupae, supplied with the same bran flour-fish food mix than during the larval stage and provided with a little cube of apple (about 4mm side) weekly as a water source. Survival of individuals was checked weekly until the death of all of them. Individual size was estimated after death by measuring the length of both elytra using a Nikon SMZ 1500 stereo microscope with NIS Elements AR software (version 4.00.03). The length of each elytron was measured from its insertion into the scutellum to its basis. All measures were made by the same person with a precision of 0.01 mm. The average value of the two measures per insect was used as a data point.

c – Age-specific reproductive performance

Reproduction was analysed on females only because data on egg production are relevant of their reproductive investment, whereas reproductive investment in males is rather linked to copulation rate, which was not assessed in this study. Reproductive performance of each female beetle was assessed through two reproductive episodes of 10 days: an early one, from day 10 to day 20 post-eclosion, and a late one, from day 40 to day 50 post-eclosion. This early reproductive episode corresponds to the age where females are the most fertile, while the 'late' reproduction corresponds to the age period when fertility is declining, but at which mortality is low enough to minimize selective disappearance (Jehan *et al.*, 2020). The reproductive partners (a novel one in each reproductive episode, assigned randomly) were 10-to-20-day old, virgin, males and came from the stock culture. The females were weighed before and after each reproductive episode. During each reproductive episode, a female and her partner were placed in a plastic Petri dish (9 cm diameter) containing a thin layer of bleached flour, a 2mL tube of water clogged with cotton wool and a piece of apple. To prevent eggs from hatching before being counted, each couple was transferred to a new Petri dish at the middle of the 10-day reproductive period. Eggs were counted after sifting the flour (mesh size: 600 μm). Between the early and the late life reproductive episodes, and after the late

reproductive episode, the experimental individuals were kept isolated, at $24.5 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ RH and in permanent darkness.

d – Statistical analysis

Data on larval development and reproduction were analysed using R (version 4.1.2). Models presented in the results are those minimizing the Akaike's information criterion (with a $\Delta\text{AIC} \leq 2$) and containing the fewest elements in an exhaustive list of models integrating variables and interactions of interest (Galipaud, Gillingham and Dechaume-Moncharmont, 2017). Larval RH was coded as a factor (three modalities: 55%, 70% and 85% RH).

We first tested whether our three experimental larval RH treatments affected female larval growth duration, pupal mass, growth rate, elytra length, survival (as the adult age at death) and total fecundity (calculated as the sum of eggs laid during the two reproductive episodes, R1 + R2). An ANOVA followed by a Tukey's HSD test (functions `HSD.test`, `agricolae` package - Mendiburu, 2021) were computed for larval growth duration, elytra length and total fecundity. For pupal mass and larval growth rate, a Kruskal-Wallis test followed by non-parametric pair comparisons (function `kruskal`, package `agricolae` - Mendiburu, 2021) were computed due to an over-dispersion in the females raised at 85% RH. For survival, a Kaplan-Meier analysis (functions `Surv` and `survdiff`, `survival` package - Therneau et al., 2022) was followed by a pairwise log-rank comparison (function `pairwise_survdiff`, package `survminer` - Kassambara et al., 2021). All females that reached pupation were included in the analyses of growth duration, pupal mass and growth rate (55% RH: $n = 32$; 70% RH: $n = 29$; 85% RH: $n = 33$). Three females raised at 70% RH and 4 raised at 55% RH were not included in the analysis of the elytra length because their elytra were damaged. Only females that had no problem during both reproductive episodes (e.g., death of the partner) were considered for the total fecundity analysis (RH were: 55% RH: $n = 28$; 70% RH: $n = 28$; 85%: $n = 30$).

The effect of larval RH on both female egg production and reproductive investment (as the number of eggs laid per milligram of female, i.e., corrected for the mass of individuals before the reproductive episode considered) was analysed using linear mixed models (`lme` function, package `nlme` - Pinheiro et al., 2022). The most complex models included reproductive episode (early versus late), larval RH (RH: 55%, 70%, and 85%), growth rate (mg/day), and life expectancy at the beginning of each reproductive episode as main effects, and the two-way

interactions between reproductive episode, larval RH, and growth rate. To adjust for selective disappearance, life expectancy at each reproductive episode was included as an independent covariate (Tarwater and Arcese, 2017). Female identity was included as a random factor on the intercept. After model selection with models computed at maximum likelihood, parameters were estimated by the same model but computed by maximizing the restricted log-likelihood (Zuur *et al.*, 2009). Sample sizes for each larval RH were: 55% RH: n = 26; 70% RH: n = 28; 85%: n = 30. Even if our main hypothesis concerned the influence of growth rate on reproduction, we opted to include larval RH in the model selection despite its collinearity with growth rate. Indeed, larval RH seemed to influence more than just the growth rate. A summary of the best models according to AIC is available in supplementary material (Annexe 1 – Tableau A.1) for the number of eggs and Annexe 1 – Tableau A.2 for the reproductive investment).

In addition, links between growth rate (mg/day), early reproduction (R1), late reproduction (R2), and adult longevity were investigated through a path analysis. The hypotheses tested in the model, according to the disposable soma theory, were: i) individuals with a higher growth rate would be more productive in early reproduction but less in late one, ii) individuals with a higher growth rate would live shorter adult life, iii) individuals more productive during reproduction would die earlier. From these hypotheses, we constructed four diagrams (see Figure A.1 in supplementary material (Annexe 1)). The significance of relationships between variables and their effects were determined using the package lavaan (function sem) (Rosseel *et al.*, 2022). The best diagram was the one minimizing AIC (with a $\Delta AIC \leq 2$) and minimizing of the number of links. Five model-fit indices were also considered: a chi-square test with as null hypothesis the adequacy of the model to the data, the Comparative Fit Index, the Tucker-Lewis Index, the Root Mean Square Error of Approximation, and the Standardized Root Mean Square Residual (Rosseel *et al.*, 2022).

Our analysis of reproductive senescence relied on a senescence index: the difference in egg numbers between the late reproductive episode and the early one, corrected by the total fecundity of the female. This correction accounting for the total fecundity allows scaling individuals.

$$\text{Reproductive senescence} = \frac{(\text{Late number of eggs} - \text{Early number of eggs})}{(\text{Late number of eggs} + \text{Early number of eggs})}$$

Reproductive senescence, therefore, occurs if this index is negative. Linear models conducted included larval RH, growth rate, and/or age at death as main effects, and the interaction between larval RH and growth rate. Individual age at death was used as an indicator of individual quality. A summary of the best models according to AIC is available in the supplementary material (Annexe 1 - Tableau A.3).

4 – Results

a – Effect of larval environment on growth duration, pupal mass, growth rate and elytra length of females *T. molitor*

The six traits analysed, larval growth duration, pupal mass, larval growth rate, adult elytra length, adult survival, and total fecundity, were all significantly affected by the larval RH (growth duration: $F_{2, 91} = 102$, $p < 0.0001$; pupal mass: $\chi^2_{2} = 51.9$, $p < 0.0001$; growth rate: $\chi^2_{2} = 78.3$, $p < 0.0001$; elytra length: $F_{2, 88} = 50.6$, $p < 0.0001$; survival: $\chi^2_{2} = 17.1$, $p = 0.0002$; total fecundity: $F_{2, 83} = 5.11$, $p = 0.008$) (Figure P1.1). The higher the relative humidity was in the larval RH, the less time the larvae needed to reach pupation (Figure P1.1A), and the heavier were the pupae (Figure P1.1B). Because growth rate values were calculated from these two latter measures, they unsurprisingly increase as larval relative humidity increases (Figure P1.1C). Elytra length was similar between females grown at 55% and 70% RH whereas females grown at 85% RH were larger (Figure P1.1D). Adult survival was similar between females reared at 55% and 70% RH (55% RH: 129 ± 9 days; 70% RH: 128 ± 8 days). Females grown at 85% RH lived about 30 days longer than females reared at 55% and 70% RH (85% RH: 159 ± 10 days) (Figure P1.1E). Females reared at 85% RH produced more eggs during the two reproductive episodes cumulated than females grown at lower relative humidity (55% RH: 126 ± 6 eggs; 70% RH: 129 ± 6 eggs; 85% RH: 148 ± 5 eggs) (Figure P1.1F).

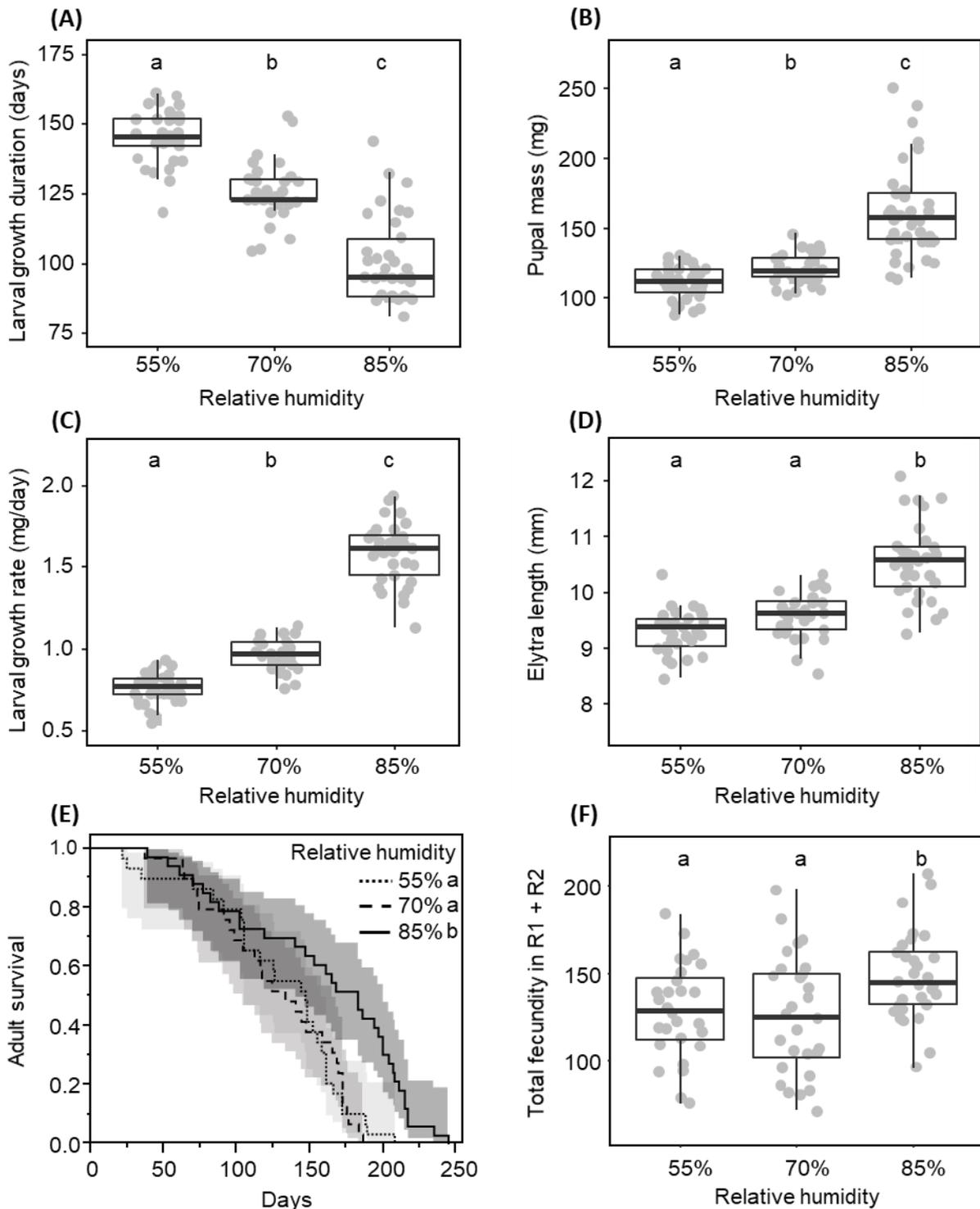


Figure P1.1: Variation of life-history traits according to conditions of larval growth (relative humidity): growth duration (A), pupal mass (B), growth rate (C), elytra length (D), adult survival (E), and total fecundity (sum of the number of eggs laid during the early and the late reproductive episode) (F). Different letters indicate significant differences assessed by post-hoc tests [Tukey HSD in panels (A, D, F), Kruskal–Wallis with Bonferroni correction in panels (B, C) and Log-rank pairwise tests in panel (E)]. In panels (A–F), gray dots are observations; box plots are median (bold lines), interquartile (boxes) and interdecile (error bars). In panel (E), confidence interval curves are given for 95%.

b – Reproductive performance

Females laid significantly more eggs during their early reproductive episode than during the late one (76.0 ± 2.4 eggs vs 58.8 ± 1.9 eggs, respectively) (Table P1.3, Figure P1.2A). In general, the higher the female growth rates during larval stages, the higher the egg production (Table P1.3, Figure P1.2A). However, this increase in female fecundity was contrasted according to the reproductive episodes considered (Table P1.3, Figure P1.2A). Indeed, the positive association between egg production and growth rate was only significant during the early reproductive episode ($F = 12.68$; d.f. = 1 on 82; $p < 0.001$) but not during the late one ($F = 0.12$; d.f. = 1 on 82; $p = 0.735$) (Figure P1.2A). In addition, female life expectancy was positively associated with fecundity (Table 1): the most fecund females in the two reproductive episodes measured here were also those that lived the longest (Figure P1.2B).

Table P1.3: Linear mixed model analyzing the number of eggs laid by *Tenebrio molitor* females. The model presented here is the only one minimizing the AIC with a $\Delta AIC \leq 2$ (see Annexe 1 – Tableau A.1 in supplementary material). Sample size: 55% RH: $n = 26$; 70% RH: $n = 28$; 85%: $n = 30$. Standard deviation of Individuals' random intercept: 6.79, 95%CI [2.88; 16.02], $R^2 = 0.35$. Effects involving reproductive episodes are given for the late episode compared to the early one (reference level).

Fixed variables	Effect	95%CI	d.f.	F	p
Reproductive episode					
Late	7.63	[-10.01; 25.26]	1, 81	39.54	<0.0001
Growth rate	19.76	[8.40; 31.13]	1, 82	7.89	0.006
Life expectancy at reproductive episode	0.08	[0.01; 0.14]	1, 81	5.00	0.028
Reproductive episode : Growth rate					
Late	-20.20	[-34.99; -5.41]	1, 81	7.39	0.008

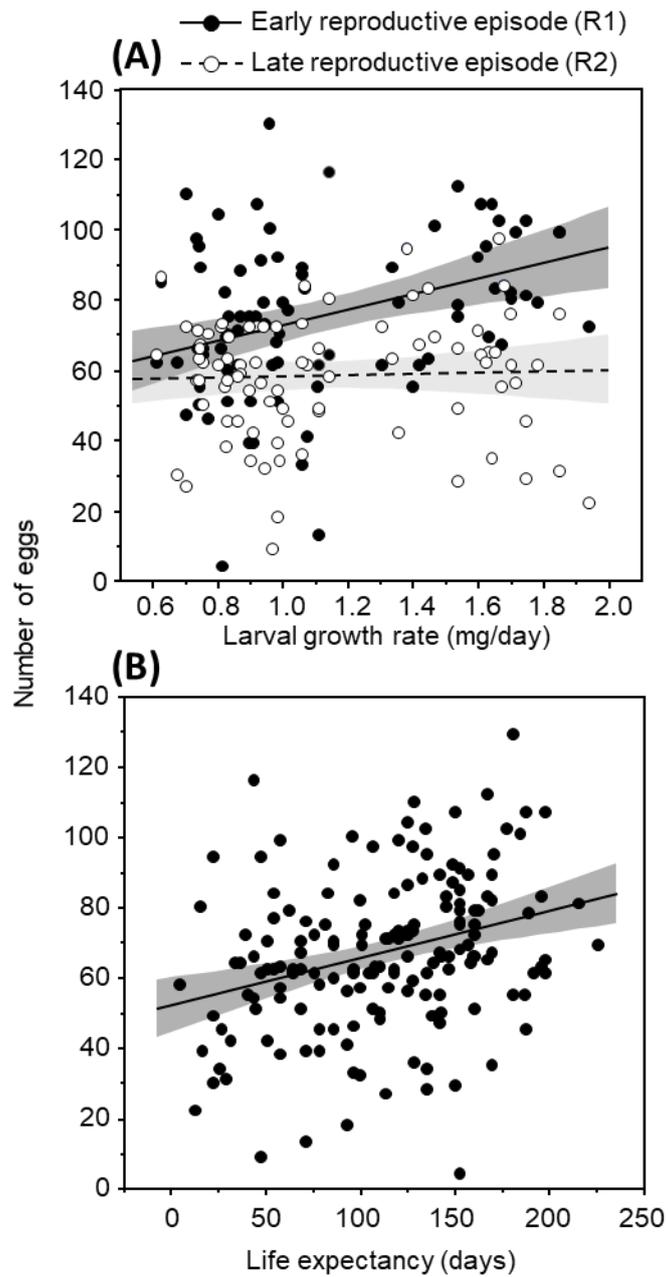


Figure P1.2: Number of eggs laid by *Tenebrio molitor* as a function of the female's growth rate according to the reproductive episode (early reproductive episode, R1: females 10–20 days old post-eclosion; late reproductive episode, R2: females 40–50 days old post-eclosion) (A) and as a function of life expectancy at reproductive episode (B). Each dot represents the measure of a single female during one reproductive episode. Lines are linear regressions with 95% confidence intervals

Female's reproductive investment (number of eggs per mg of weight) was significantly higher during the early reproduction episode than during the late one (0.64 ± 0.02 eggs/mg vs 0.53 ± 0.02 eggs/mg, respectively) (Table P1.4, Figure P1.3A). Growth rate also influenced reproductive investment: the higher the growth rate, the lower the reproductive investment (Table P1.4, Figure P1.3B). Females that lived the longest after reproduction were those that invested the most in reproduction according to their body mass (Table P1.4, Figure P1.3C).

Table P1.4 : Linear mixed model analyzing the reproductive investment (number of eggs per mg of body mass before the reproduction episode) of *Tenebrio molitor* females. Model presented here are the ones minimizing the AIC with a $\Delta AIC \leq 2$ and integrating the least number of variables (see Annexe 1 – Tableau A.2 in the supplementary material for other best models). Sample size: 55% RH: n = 26; 70% RH: n = 28; 85%: n = 30. Standard deviation of Individuals' random intercept: 0.06, 95%CI [0.03; 0.13] R² = 0.33. Effects involving reproductive episodes are given for the late episode compared to the early one (reference level). Effects involving the larval RH are given compared to 55%RH (reference level).

Fixed variables	Effect	95%CI	d.f.	F	p
Reproductive episode			1, 82	22.21	< 0.001
Late	-0.089	[-0.138; -0.04]			
Larval RH			2, 80	2.32	0.105
70%RH	0.162	[0.031; 0.293]			
85%RH	0.052	[-0.007; 0.11]			
Growth rate	-0.39	[-0.602; -0.178]	1, 80	14.89	< 0.001
Life expectancy at reproductive episode	0.001	[0; 0.001]	1, 82	6.03	0.016

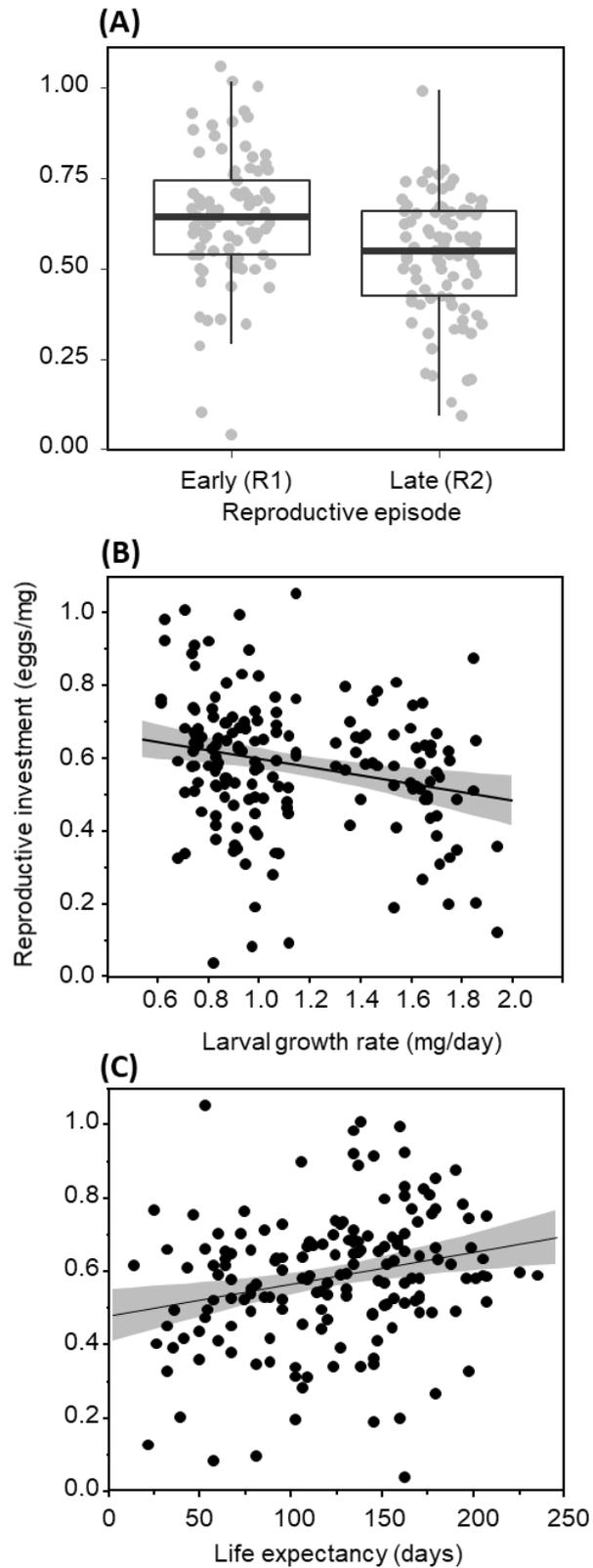


Figure P1.3: Reproductive investment (number of eggs per mg of body mass) of females *Tenebrio molitor*, according to reproductive episode (early reproductive episode, R1: females 10–20 days old post-eclosion; late reproductive episode, R2: females 40–50 days old post-eclosion) (A); as a function of the female's growth rate (B) and as a function of life expectancy at reproductive episode (C). Each dot represents the measure of a single female during one reproductive episode. Lines are linear regressions with 95% confidence intervals.

c – Causality network between growth rate, early/late fecundity and adult longevity

As shown above in the analysis of reproductive performances, the path analysis revealed that females that grew faster laid more eggs during the early reproductive episode and lived longer (Figure P1.4). The link between early and late fecundity was not significant. Finally, the more fecund the females were late in their life, the longer they lived (Figure P1.4).

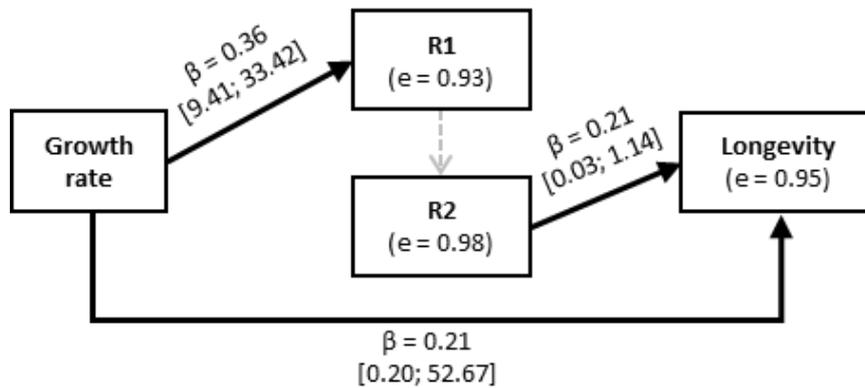


Figure P1.4: Path analysis diagram describing the direct and indirect effects of growth rate on fecundity and adult longevity (best one of four tested; see Supplementary Annexe 1 – Figure A.1 in Supplementary material for other diagrams). Arrows with solid black lines represent significant (p -value < 0.05) links, arrows with dashed lines represent links tested but insignificant. When the relationship was significant, the standardized coefficient (β) and 95% confidence interval of the non-standardized coefficient are given. Errors (e) are given for each endogenous variable as $\sqrt{1-R^2}$.

d – Reproductive senescence

The reproductive senescence index was significantly affected by the interaction between growth rate and larval RH (Table P1.5). There was no significant relationship between growth rate and reproductive senescence in females that grew at 55% ($F = 0.65$; d.f. = 1; $p = 0.430$) and 70% RH ($F = 3.11$; d.f. = 1; $p = 0.090$) (Figure P1.5). However, females from larva kept at 85% RH showed stronger reproductive senescence when having grown faster ($F = 9.60$; d.f. = 1; $p = 0.004$) (Figure P1.5).

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

Table P1.5: Linear model analyzing the reproductive senescence of *T. molitor* females. The reproductive senescence was estimated as the ratio of the difference between the two reproductive episodes (early and late) over the total of eggs laid during both reproductive episodes. The models presented here are the ones minimizing the AIC with a $\Delta AIC \leq 2$ and including the least number of variables (see Annexe – Tableau A.3 in supplementary material). Sample size: 55% RH: n = 26; 70% RH: n = 28; 85%: n = 30, $R^2 = 0.17$.

Variables	Effect	95%CI	d.f.	F	p
Larval RH			2	2.74	0.07
70%RH	0.74	[-0.05; 1.52]			
85%RH	1.00	[0.09; 1.91]			
Growth rate	0.33	[-0.20; 0.85]	1	1.09	0.30
Larval RH : Growth rate			2	4.63	0.013
70%RH	0.70	[-1.56; 0.16]			
85%RH	-0.81	[-1.76; 0.13]			
Residuals			80		

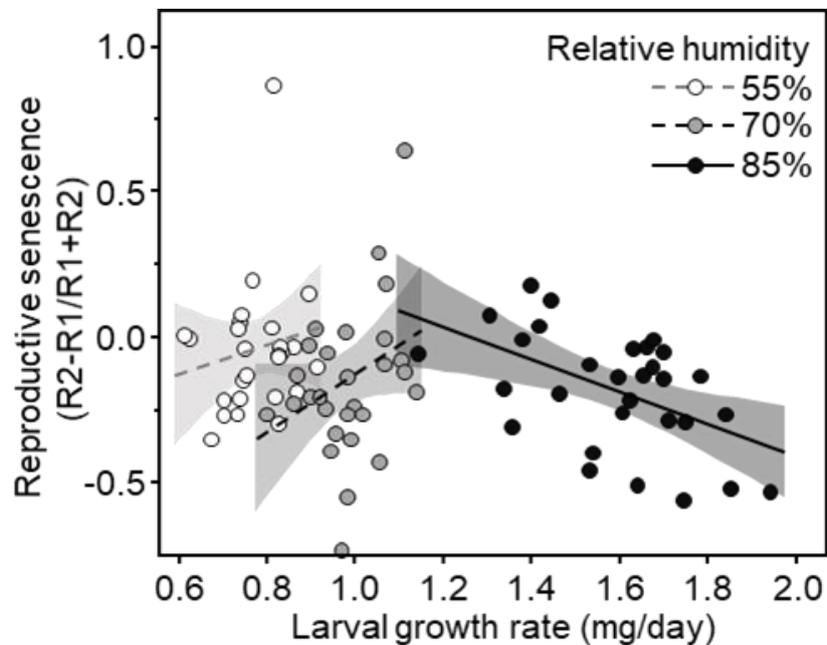


Figure P1.5: Reproductive senescence of females of *Tenebrio molitor* as a function of larval growth rate and according to the conditions of larval growth (relative humidity). Reproductive senescence was estimated by the difference between the late number of eggs (R2) and the early number of eggs (R1) corrected by the total number of eggs during the two reproductive episodes (R1 + R2).

5 – Discussion

a – Higher relative humidity increases larval growth rate in *Tenebrio molitor*

By manipulating the relative humidity during the larval stages of *T. molitor*, we successfully manipulated the growth rate. The larvae reared at higher relative humidity developed faster. This enhanced growth rate resulted from both a shorter growth duration and an increase in

body mass when reaching the pupal stage. Such a result was expected, as the relative humidity is known to modify *T. molitor* larval development (Leclercq, 1948). A mechanism proposed but not tested yet to our knowledge, is that higher relative humidity might enhance the capacity to absorb water and so to ingest food, increasing metabolism, irrespectively of the food quality and quantity provided (Hardouin and Mahoux, 2003; Ribeiro, Abelho and Costa, 2018). Indeed, although *T. molitor* is an insect living on dry substrates and is efficient at extracting and saving water, its optimal relative humidity is around 70% (Ribeiro *et al.*, 2018 for a review). Such an effect of relative humidity on body mass might be a potential source of confounding effect when attempting to understand how growth rate is trading-off against future performances and especially future reproduction (Metcalf and Monaghan, 2003). It is widely known that the body mass of animals, and especially insects, is directly linked with individual body condition and often predicts fecundity (Arrese and Soulages, 2010; Zanchi, Moret and Gillingham, 2019). However, it seems illusory to think that changing larval growth rate can be done without affecting adult size in *T. molitor*. We have controlled for this effect of body size in our statistical analyses, but it never directly affected female fertility nor their reproductive investment (see below). Additional experimental methods enabling to generate variation in larval growth rate might provide complementary information regarding early-late life trade-offs, at least to figure out whether they all converge towards the same results. They may involve the modification of the larval environment by other means than the manipulation of the relative humidity, such as manipulating food or temperature. They may also involve the use of different strains of *T. molitor* differing in their larval growth rate (e.g., inbred lines or lines obtained after from selection experiments). At least, our present study succeeded in generating individuals that have experienced different growth conditions during the larval stages only. The adults were all kept in a common garden. Thus, if, as suspected, changes in larval growth rate between the RH treatment modalities might be caused by metabolic changes, they were due to differences in the larval environment only.

b – Does increasing growth rate of *T. molitor* induce a “silver spoon” effect?

The experimental modification of the environmental relative humidity of larvae affected the survival of *T. molitor* adult females. There were no differences between individuals reared at 55% and 70% RH, but the ones reared at 85% RH survived longer. The same tendency was observed for the total fecundity. In addition, the longer the females are living after the last

reproductive episode, the more eggs they have laid and the more they have invested in reproduction. This observation is congruent with the absence of terminal investment and rather militates for the hypothesis of the use of a reproductive restraint strategy in this insect species, as previously proposed (Jehan *et al.*, 2020, 2021). The higher reproductive performances of long-lived females may also be linked to their individual quality. Indeed, considering the fact that females reared at 85% RH during their larval stages were also those that lived the longest, were the largest, and laid more eggs (see below), they may benefit from a “silver spoon” effect, where individuals born in good conditions have fitness advantages later in life (Grafen, 1988; Lindström, 1999; Monaghan, 2008). Such an effect has already been observed – not consistent with all life-history traits, however – in an experimental study manipulating larval diet in an insect (Angell *et al.*, 2020). Alternatively, high environmental relative humidity may represent cues for a harsher environment, as it could be associated to better conditions for microbial development and therefore higher risk of infection. As a result, females might have adaptively accelerated their reproductive effort (Nettle, Frankenhuis and Rickard, 2013). However, such an acceleration of reproduction is expected to negatively affect somatic defenses and reduce longevity (Williams, 1957; Kirkwood, 1977; Lemaître *et al.*, 2015; Maklakov and Chapman, 2019). Since our controlled laboratory conditions prevented the development of microbial pathogens and provided *ad libitum* food, the survival cost of accelerated early reproduction could not be revealed. Further study may need to look at the immunity of the insects in such a condition.

c – Higher larval growth rate increased reproductive senescence

As expected, the female reproductive performance, in terms of both number of eggs laid and reproductive investment (number of eggs controlled by female body mass), were lower late in life than earlier (Dick, 1937; Jehan *et al.*, 2021). Females that exhibited the highest growth rate laid more eggs during the early reproduction episode, but the larval growth rate did not affect the number of eggs produced during the late one. Tendencies were the reverse for reproductive investment, with a lower reproductive investment observed in late reproduction in fast-developing females. In fact, the slowest-developing females had similar performances early and late in life. These results on reproductive investment are congruent with the trade-off between early and late-life traits, where increased growth rate resulted in a decrease of reproductive performance late in life, in line with the disposable soma theory of ageing

(Kirkwood, 1977; Lemaître *et al.*, 2015; Maklakov and Chapman, 2019). The index of reproductive senescence we have used, calculated as the difference between the number of eggs laid during the late and the early reproductive episode divided by the total number of eggs laid, provides complementary information. This index has the advantage of taking into account female total fecundity (during both reproductive episodes) and so reduces the influence of individual female quality. According to this index, reproductive senescence was only detected in females reared at 85% RH, namely the fastest-developing ones (because they had the shorter growth duration and the highest pupal mass), exhibiting growth rate values above one mg per day. Our experimental approach did not allowed separating the effect of the onset of senescence and the rate of senescence. Therefore, we cannot tell whether females that developed faster were those that had the earliest of senescence. Nevertheless, our results clearly illustrate the occurrence of pace of life along a slow-fast continuum. Fast-developing females were larger, exhibited higher fecundity early in life, but suffer from steep reproductive senescence later while growing in age. By contrast, slow-developing females were smaller, died earlier, but exhibited stable reproductive performances throughout their lives (at least between the 10 and 50 days of adult life we have measured here). The results of our work are in line with those of two previous studies on insects. Hunt *et al.* (2004) showed that high-quality cricket males were those that invested the most in reproduction at the expense of reduced longevity. Hooper *et al.* (2017) showed that high-condition males of a neriid fly were those that had the quickest development, but the fastest reproductive and actuarial senescence compared to low condition males. Since we did not measure the total (lifetime) reproductive success of the females, we cannot exclude that the observed low rate of reproductive senescence among slow-developing females is due to an incomplete reproductive census. However, our protocol, where “only” two reproductive episodes were analyzed – one early in life, when fecundity was predicted to be the highest, and one later in life (from the age of 40 day old onward), when fecundity is known to begin its decline (Jehan *et al.*, 2020) – has the advantage of measuring reproductive senescence before the onset of actuarial senescence. Perhaps recording additional reproductive episodes later in life would allow a comparison of senescence trajectories among females with contrasted growth rates, but such a study would require disentangling senescence from selective disappearance (Vaupel, Manton and Stallard, 1979; Nussey *et al.*, 2011), since mortality is rapidly increasing after 60 days of adult life.

6 – Conclusions

By manipulating the relative humidity of the environment of the larvae of the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*, we were able to generate variation in growth rate and adult female quality consistent with a “silver spoon” effect (Grafen, 1988). Despite this effect, and in line with the disposable soma theory of ageing, we provide unambiguous evidence that growth rate significantly correlates with reproductive senescence. Overall, our study shows that growth rate, which is highly dependent on the early-life environment, is an important factor contributing to adult life history and senescence through the occurrence of early-late life trade-offs.

B – Analyses complémentaires : influence de l’humidité environnementale larvaire sur la croissance et la sénescence reproductive chez *T. molitor*

Ce sous-chapitre B est un complément à l’étude précédente, qui a examiné l’impact du taux de développement (acquisition de masse par unité de temps) sur la sénescence reproductive de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d’humidité relative. Dans cette partie, il est question de se concentrer sur l’incidence de la durée de développement plutôt que sur celle du taux de croissance.

1 – Matériel et méthodes

a – Développement larvaire et mesures de sénescence reproductive

Les détails concernant le matériel et les méthodes utilisés pour recueillir ces données sont présentés avec précision dans la section « Matériel et Méthodes » de la Partie 1 et dans la section B de cette même partie. En résumé, des larves de *T. molitor* ont été placées dans trois conditions d’humidité relative différentes (H55 : 55 ± 5 % HR, $24 \pm 1^\circ\text{C}$; H70 : 70 ± 5 % HR, $24 \pm 1^\circ\text{C}$; H85 : 85 ± 5 % HR, $24 \pm 1^\circ\text{C}$) jusqu’à leur nymphose. Une fois parvenues au stade nymphal, les individus ont été pesés et transférés dans des conditions standard d’élevage (70 ± 5 % HR, $24 \pm 1^\circ\text{C}$) afin que les variations de performance reproductive découlent des conditions rencontrées pendant leur développement larvaire. Comme déjà indiqué dans la section B du présent chapitre, les modifications des conditions d’humidité relative durant la phase larvaire ont entraîné des différences dans la durée du développement larvaire, avec les individus en condition H55 montrant le développement le plus long et ceux en condition H85 le plus court (Figure P1.1).

Une fois devenus adultes, les individus ont été soumis à deux périodes de reproduction : la première, qualifiée de précoce, a eu lieu entre 10 et 20 jours après l’émergence, correspondant à l’âge auquel les femelles atteignent leur pic de fertilité (Jehan *et al.*, 2020). La seconde, qualifiée de tardive, s’est déroulée entre 40 et 50 jours après l’émergence. Avant chaque période de reproduction, les individus ont été pesés. Pendant ces périodes de reproduction, un partenaire de sexe opposé âgé de 10 à 20 jours a été placé avec l’individu focal. Le nombre d’œufs pondus au cours de ces périodes a été comptabilisé comme mesure

de la fertilité. Il convient de préciser que seules les femelles ont été incluses dans les analyses. À partir des comptages d'œufs, la fécondité totale, qui correspond à la somme des œufs pondus au cours des deux périodes de reproduction, a été calculée, ainsi qu'un indice de sénescence reproductive. Cet indice est obtenu en soustrayant le nombre d'œufs de la période précoce à celui de la période tardive, puis en divisant le résultat par la fécondité totale. Un indice de sénescence reproductive faible indique une forte sénescence reproductive, c'est-à-dire une importante diminution de la fécondité entre les périodes précoce et tardive de la reproduction des adultes.

Le moment de la mort des individus expérimentaux a également été enregistré et la longueur de leurs élytres a été mesurée post-mortem.

La répartition des effectifs par condition de température larvaire est présentée dans le Tableau 1.1.

b – Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été effectuées avec R studio version 2022.12.0 en utilisant la version 4.1.2 de R (R Core Team, 2022).

Pour tester l'effet de la durée du développement sur la sénescence reproductive, deux approches complémentaires ont été adoptées. Tout d'abord testé, l'effet de la durée du développement a été testé en utilisant l'Indice de sénescence reproductive. Ensuite, pour affiner l'examen de l'influence de la durée du développement sur les performances reproductives précoces et tardives, le nombre d'œufs pondus par les femelles au cours de ces deux périodes de reproduction a été analysé.

Contrairement à la sous-partie précédente, je n'ai pas intégré la condition d'humidité relative larvaire comme une covariable des modèles, mais comme un facteur aléatoire.

Pour l'analyse de l'indice de sénescence reproductive, une sélection exhaustive des modèles statistiques a été effectuée à l'aide du critère d'information d'Akaike (AIC). Le modèle de départ, le plus complexe, incluait les effets fixes suivants : le temps de développement, le temps de développement au carré, la masse nymphale et la longévité adulte, ces deux derniers étant des indicateurs de la qualité individuelle des femelles. Les modèles testés intégraient les conditions d'humidité relative larvaire des femelles en tant que variables

aléatoires (modèles mixtes établis avec le package lme4, fonction lmer (Bates *et al.*, 2023)). Tous les modèles présentant un écart de valeur d'AIC de 2 ou moins par rapport au modèle présentant le plus faible AIC, ont été considérés comme les modèles les plus appropriés pour expliquer la variation d'indice de sénescence (Galipaud, Gillingham et Dechaume-Moncharmont, 2017). Les modèles et leur AIC sont disponibles en Annexe 1 – Tableau A.4. Parmi ces modèles, j'ai choisi de présenter les résultats de celui qui correspondait le mieux à mes hypothèses concernant le temps de développement.

Pour l'analyse des performances de reproduction précoces et tardives, j'ai suivi la même procédure que précédemment, avec comme modèle le plus complexe : le temps de développement, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction. Les modèles testés incluaient également les conditions d'humidité relative larvaire et l'identité des individus expérimentaux (puisque deux mesures ont été effectuées par individu) en tant que variables aléatoires (modèles mixtes établis avec le package lme4, fonction lmer (Bates *et al.*, 2023)). Les meilleurs modèles, avec un écart d'AIC inférieur ou égal à 2 par rapport au modèle présentant le plus faible AIC, sont répertoriés en Annexe 1 – Tableau A.5.

2 – Résultats

Le temps de développement ne semble pas avoir de prise (ou peu) sur la sénescence des femelles de *T. molitor* après modification du développement via les conditions d'humidité relatives. En effet, pour l'indice de sénescence reproductive, bien que le temps de développement soit présent dans l'un des meilleurs modèles (voir Annexe 1 – Tableau A.4 pour les autres modèles), il n'a pas d'effet significatif (Figure 1.6 A et Table 1.6 A). En fait ce modèle est en concurrence avec le modèle nul, suggérant qu'aucun des facteurs pris en compte dans notre analyse n'influence significativement l'indice de sénescence reproductive.

Pour l'analyse directe du nombre d'œufs sur les deux périodes de reproduction, l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction est retenue dans le meilleur modèle que j'ai choisi de montrer ici (Tableau P1.6). Cependant, l'effet de cette interaction n'est pas significatif (Table P1.6 B, $p = 0,11$) et le temps de développement seul n'a pas non plus d'effet significatif. Par contre, les femelles avec la masse la plus grande juste avant les

périodes de reproduction produisent plus d'œufs, quelle que soit la période considérée (Tableau P1.6 B). Les femelles ont, comme attendu avec le choix de l'âge pour les périodes de reproduction, pondus plus d'œufs tôt dans leur vie que plus tard (Figure P1.6 B, Tableau P1.6 B). Il s'agit d'ailleurs de la variable ayant le plus d'effet sur le nombre d'œufs pondus. Enfin, indépendamment de la période de reproduction, les femelles qui vivent le plus longtemps sont celles qui pondent le plus d'œufs (Tableau P1.6 B ; phénomène déjà observé sur la Figure P1.6 B).

Tableau P1.6 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du temps de développement larvaire sur la sénescence reproductive des femelles ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative, estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) les nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction. L'échantillon comprend N = 85 femelles. Les modèles les plus complexes lors du processus de sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ». Les lignes ne présentant pas d'information correspondent aux variables non retenues dans le modèle. Les modèles statistiques testés sont des modèles linéaires mixtes avec comme effet aléatoire (A) l'humidité relative larvaire ou (B) l'humidité relative larvaire et l'identité de l'individu, puisque dans ce dernier cas, il y avait deux mesures par femelles (une pour la reproduction précoce et une pour la reproduction tardive). Les modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 – Tableau A.4 pour l'analyse de l'indice de sénescence et Tableau A.5 pour l'analyse du nombre d'œufs pondus. Les valeurs de p montrant un effet statistiquement significatif ($p < 0,05$) sont en gras.

(A) Indice de sénescence reproductive

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.f.	p
Temps de développement	0,0007	0,001	0,34	1	0,562
Temps de développement ²	-	-	-	-	-
Masse nymphale	-0,0015	0,0009	3,06	1	0,08
Longévité adulte	-	-	-	-	-

(B) Nombre d'œufs

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.f.	p
Temps de développement	-0,12	0,1	0,05	1	0,83
Masse avant reproduction	0,22	0,07	10,52	1	0,001
Période de reproduction (Tardive)	-41,37	16,05	32,98	1	< 0,0001
Longévité adulte	0,51	0,21	5,7	1	0,017
Temps de développement : Période			2,58	1	0,11
Longévité adulte : Période	-	-	-	-	-

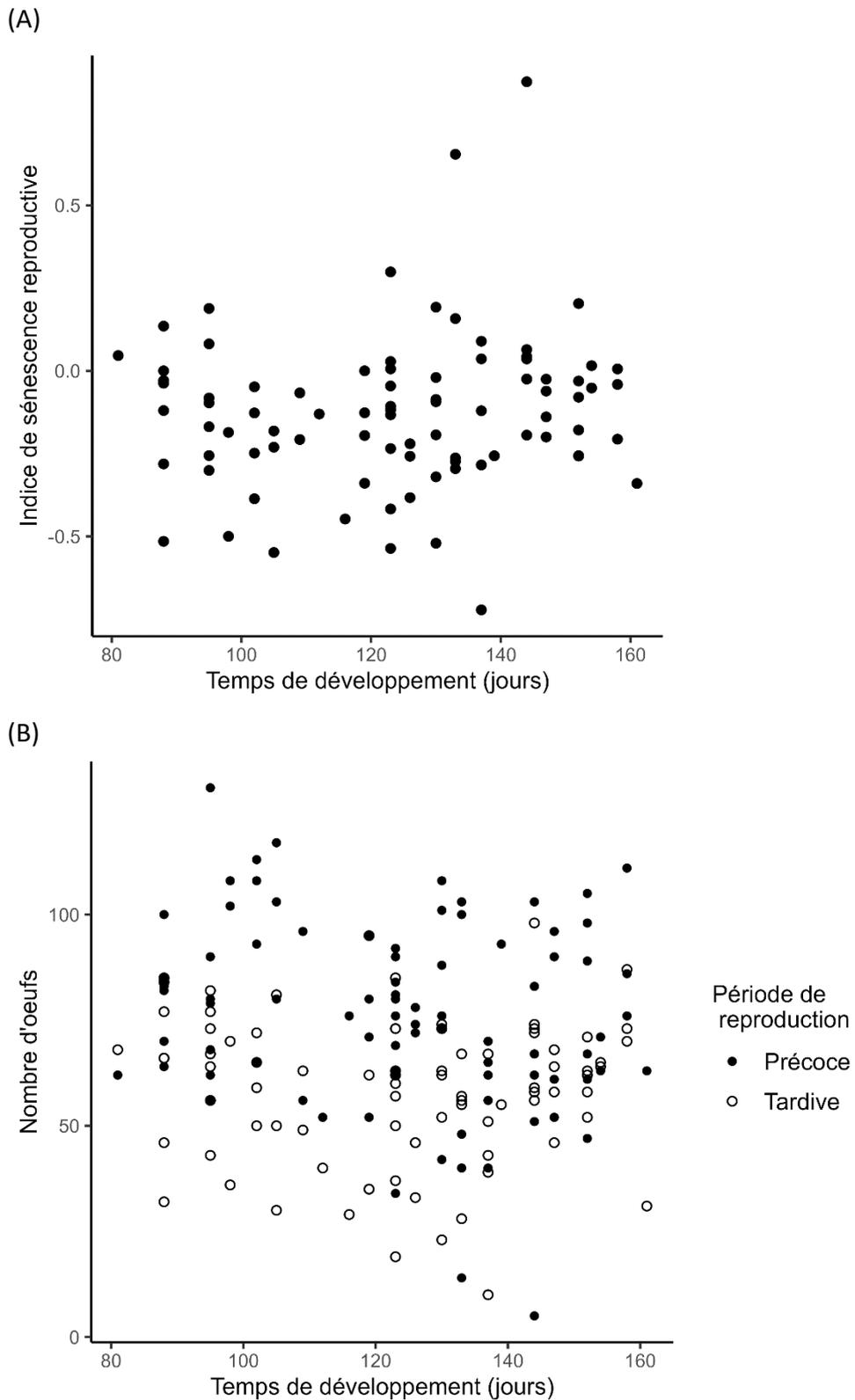


Figure P1.6 : Sénescence reproductrice des femelles de *T. molitor* issues des différentes humidités relatives larvaires en fonction du temps de développement larvaire. La sénescence est illustrée par (A) l'Indice de sénescence reproductrice (calculé comme le rapport entre la différence entre les reproductions tardive et précoce, et la fécondité totale) et (B) le nombre d'œufs pondus lors des périodes de reproduction précoce et tardive. N = 86 pour (A) et (B) avec deux mesures (précoce et tardive) par femelle pour (B).

3 – Discussion

a – Modification du temps de développement via l'humidité relative larvaire

Comme montré dans le sous-chapitre A, les larves élevées dans les conditions les plus humides se développaient plus rapidement. Ainsi, les larves placées à 85% HR ont mis moins de temps que celles soumises aux deux autres conditions pour devenir des nymphes (et par conséquent, des adultes, étant donné que la durée de la phase nymphale est courte et très stable), tandis que les larves placées à 55% HR ont pris plus de temps. L'impact de l'humidité relative sur le temps de développement de *T. molitor* était prévisible, puisqu'il a déjà été bien documenté (Leclercq, 1948 ; Hardouin et Mahoux, 2003 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018). La prise de masse durant cette période de développement, c'est-à-dire le taux de croissance, a également été fortement influencée par l'humidité relative larvaire, entraînant une masse plus importante au début de la phase adulte chez les individus ayant grandi à 85% HR. Cette augmentation de masse était également anticipée (Leclercq, 1948 ; Urs et Hopkins, 1973). Cependant, elle peut constituer une source d'effet confondant quand on recherche un effet sur la sénescence et donc sur les performances tardives (Metcalf et Monaghan, 2003), car la masse des insectes est directement liée à la qualité individuelle, notamment en termes de fécondité (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019). Pour pallier à ce problème, la masse a été prise en compte dans mes analyses, et un autre aspect de la modification de l'environnement larvaire, la température, sera considérée dans la sous-partie suivante.

Je rappellerais ici que je soupçonne un effet « *silver spoon* » (Grafen, 1988 ; Lindström, 1999 ; Monaghan, 2008) entre la condition larvaire la plus humide et les deux autres (voir sous-chapitre A). En effet, les femelles élevées à 85% HR se sont développées et ont grandi plus vite, et malgré ce laps de temps plus court, ont atteint une masse plus importante à la fin de leur croissance. De plus, ces femelles sont aussi celles qui ont vécu le plus longtemps et qui ont affiché la fécondité totale la plus élevée (fécondité cumulée sur les deux périodes de reproduction considérée).

b – Des performances reproductives ne dépendant pas directement du temps de développement

Comme observé dans le sous-chapitre A et prévu selon les études antérieures sur la reproduction de *T. molitor* (Dick, 1937 ; Drnevich *et al.*, 2001 ; Jehan *et al.*, 2021), une sénescence reproductive, c'est-à-dire une baisse du nombre d'œufs pondus par les femelles entre la période de reproduction précoce et la période de reproduction tardive, a été constatée. Il semble que l'âge, considéré à partir du début de la phase adulte, (par le biais de la période de reproduction) soit le facteur ayant le plus d'influence sur le nombre d'œufs.

Contrairement au taux de croissance étudié dans le sous-chapitre A, le temps de développement n'a ici pas d'incidence sur la sénescence reproductive des femelles de *T. molitor*. En effet, ni l'indice de sénescence reproductive, défini ici comme la différence entre la période de reproduction tardive et la précoce, divisée par la fécondité totale, ni le nombre d'œufs en fonction de la période de reproduction, ne dépendent du temps de développement des femelles.

Les résultats intégrant la longévité, vont clairement dans la même direction que ceux de la sous-partie A. Bien que les méthodes statistiques ne soient pas exactement les mêmes, les données le sont. Ici, j'ai pris en compte la longévité adulte plutôt que le temps de vie restant après la période de reproduction, mais étant donné que les périodes de reproduction étaient à des âges fixes, ces deux mesures changent de manière proportionnelle entre femelles. Les femelles vivant le plus longtemps sont également celles qui produisent le plus grand nombre d'œufs en général. Ce résultat suggère un impact de la qualité de l'individu. De plus, la relation entre la longévité et la performance reproductive ne semble pas dépendre de la période de reproduction considérée. L'augmentation du nombre d'œufs pondus en parallèle de l'augmentation de la longévité est donc observée aussi bien pour la période de reproduction précoce que tardive. Ce résultat est cohérent avec les connaissances actuelles sur la reproduction de *T. molitor*. En effet, les femelles de *T. molitor* adoptent une stratégie de reproduction restreinte (Jehan *et al.*, 2022a), privilégiant une survie prolongée et, par conséquent, davantage d'occasions de ponte, mais avec un nombre d'œufs limité. Ainsi, une fois le pic de performance reproductive passé (entre 10 et 20 jours après émergence), la fécondité pourrait se stabiliser dans le temps. Néanmoins, tant l'ampleur du pic de fécondité que le nombre d'œufs des pontes ultérieures dépendraient de la qualité de l'individu, qui

influence également la longévité. Une étude longitudinale des performances de ponte des femelles, comportant davantage de points que les deux considérés ici, pourrait permettre d'élucider la trajectoire complète des performances reproductives de *T. molitor* et, par conséquent, sa trajectoire de sénescence reproductrice. Cela permettrait notamment de la mettre en relation avec sa vitesse de développement et/ou de croissance.

Enfin, plus la masse des femelles avant la période de reproduction était importante, plus elles pondaient d'œufs. Ce résultat est très classique, la masse des femelles chez les insectes étant, comme exposé plus précédemment, un assez bon prédicteur de leur performance reproductrice (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019). Il est cependant possible que cet effet de la masse et l'effet précédemment décrit de la longévité ne soient pas indépendants, puisque les femelles les plus grandes, avec le plus de réserves, pourraient aussi être celles qui vont vivre le plus longtemps. Cette réflexion nous amène à réaffirmer l'effet « *silver spoon* » décrit précédemment, puisque les femelles qui débutaient leur vie adulte avec le plus de réserves tout en vivant un peu plus longtemps que les autres étaient celles qui ont grandi à 85% HR.

C – Influence de la température larvaire sur la croissance et la sénescence reproductive

Comme mentionné précédemment, les méthodes de modification de la vitesse de développement et de croissance présentent toutes des effets confondants. Les sous-parties précédentes en sont un bon exemple, avec l'humidité relative larvaire qui a probablement induit des différences de qualité individuelle. Ainsi, la diversité des approches est nécessaire pour confirmer des résultats.

Dans cette dernière sous-partie, nous nous intéresserons à la sénescence reproductive des femelles de *T. molitor* dont la durée de développement et le taux de croissance ont été modifiés via trois températures larvaires différentes.

2 – Matériel et méthodes

a – Développement larvaire et mesures de sénescence reproductive

Le matériel et méthodes de l'expérience ayant permis l'acquisition de ces données est présenté en détail dans la section « Matériel et méthodes » de la partie 1. En résumé, des larves de *T. molitor* ont été placées dans trois conditions de température (T20 : $20,5 \pm 1$ °C, 85 ± 5 % HR ; T24 : 24 ± 1 °C, 85 ± 5 % HR ; T28 : 28 ± 1 °C, 85 ± 5 % HR) jusqu'à leur nymphose. Une fois le stade nymphal atteint, les individus ont été pesés et transférés dans les conditions standard d'élevage (24 ± 1 °C, 70 ± 5 % HR) afin que les variations de performance reproductive soient majoritairement attribuables à leur période de développement larvaire. Le moment de leur nymphose a permis de déterminer leur temps de développement, et le taux de croissance de chaque insecte a pu être calculé à partir du rapport entre la masse nymphale et le temps de développement.

Une fois devenus adultes, les individus ont été soumis à deux périodes de reproduction, une première, qualifiée de précoce, a eu lieu entre 10 et 20 jours après l'émergence, âge auquel les femelles atteignent le pic de fertilité (Jehan *et al.*, 2020), et la seconde, qualifiée de tardive, entre 40 et 50 jours après l'émergence. Les individus ont été pesés avant chaque période de reproduction et, au cours de celles-ci, un partenaire de sexe opposé, âgé de 10 à 20 jours a été placé avec l'individu focal. Le nombre d'œufs pondus au cours de ces périodes a été comptabilisé comme proxy de la fécondité. Seules les femelles ont été considérées dans les

analyses. À partir des comptages d'œufs, la fécondité totale de toutes les femelles a été calculée (T20 : 32 femelles ; T24 : 30 femelles et T28 : 23 femelles) et correspond à la somme des œufs pondus lors des deux périodes de reproduction. Un indice de sénescence reproductive a également été calculé comme la différence entre les nombres d'œufs de la période tardive et la période précoce, divisée par la fécondité totale. Plus cet indice est faible, plus il indique une diminution importante de la fécondité entre la période reproductive précoce et la période reproductive tardive, c'est-à-dire une sénescence reproductive forte.

Le moment de la mort des individus expérimentaux a été enregistré et la longueur de leurs élytres a été mesurée post-mortem.

La répartition des effectifs par condition de température larvaire est présentée dans le Tableau P1.1.

b – Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été effectuées sur R studio version 2022.12.0 avec la version 4.1.2 de R (R Core Team, 2022).

Avant d'examiner l'influence du temps de développement et du taux de croissance sur la sénescence reproductive, j'ai caractérisé les femelles pour leur temps de développement et leur taux de croissance en fonction de leur température larvaire afin de vérifier que leur temps de développement et/ou leur taux de croissance avait effectivement été modifié. De plus, j'ai aussi comparé les femelles sur la base de leur masse nymphale, de la longueur de leurs élytres, de leur fécondité totale et leur longévité adulte. Ces dernières mesures constituent des indices de la qualité des individus. Pour ces comparaisons entre femelles issues des différentes conditions de température larvaires, j'ai utilisé des modèles linéaires (package stats, fonction lm (R Core Team, 2022)) lorsque les données suivaient une distribution normale et que l'homoscédasticité des variances étaient respectées (taux de croissance et longueur des élytres). Dans les cas où ces conditions n'étaient pas satisfaites (temps de développement et masse nymphale), des modèles linéaires généralisés (package stats, fonction glm (R Core Team, 2022)) avec une loi gamma et le logarithme comme fonction de lien pour le temps de développement et masse nymphale, ainsi qu'une loi de Poisson avec le logarithme comme fonction de lien pour la fécondité totale, ont respectivement été utilisés. Pour évaluer

l'influence de la température larvaire sur la longévité adulte, j'ai utilisé une régression de Cox (packages survival, fonction `coxph` (Therneau *et al.*, 2022)).

Pour tester l'effet de la vitesse du développement et/ou de la croissance sur la sénescence reproductive, deux approches complémentaires ont été employées, chacune avec le temps de développement et le taux de croissance. Tout d'abord, j'ai testé l'effet de la vitesse du développement et de la croissance en utilisant l'indice de sénescence reproductive. Ensuite, pour mieux comprendre l'effet de la vitesse du développement et de la croissance sur les performances reproductives précoces et tardives, j'ai analysé le nombre d'œufs pondus par les femelles au cours de ces deux périodes de reproduction.

Pour l'analyse de l'indice de sénescence, j'ai effectué une sélection exhaustive de modèles, à partir du modèle le plus complexe qui comprenait comme effets fixes : le temps de développement ou le taux de croissance, le carré de celui-ci, la masse nymphale et la longévité adulte. Les variables de masse nymphale et de longévité adulte ont servi d'indicateurs de la qualité individuelle des femelles. Les modèles testés intégraient la température larvaire des femelles en tant que variable aléatoire (modèles mixtes établis avec le package `lme4`, fonction `lmer` (Bates *et al.*, 2023)). Tous les modèles qui présentaient un écart d'AIC de 2 ou moins avec le modèle présentant le plus faible AIC étaient considérés comme les meilleurs modèles (Galipaud, Gillingham et Dechaume-Moncharmont, 2017). Les modèles et leurs AIC respectifs sont disponibles en Annexe 1 (Tableau A.6 pour l'analyse de l'indice de sénescence avec le temps de développement et Tableau A.7 pour celle avec le taux de croissance). Parmi ces modèles, j'ai choisi de présenter les résultats de celui qui était le plus cohérents avec les hypothèses de l'influence de la vitesse du développement et de la croissance sur la sénescence.

Pour l'analyse des performances reproductives précoces et tardives, j'ai suivi la même procédure que précédemment, en utilisant le modèle le plus complexe qui comprenait : le temps de développement ou le taux de croissance, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement ou le taux de croissance et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre la longévité adulte et la période de reproduction. Les modèles testés ont intégré la température larvaire et l'identité des individus expérimentaux en tant que variables aléatoires (modèles mixtes établis avec le package `lme4`, fonction `lmer` (Bates *et al.*, 2023)). Les meilleurs

modèles (avec un écart d'AIC inférieur à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC) sont disponibles en Annexe 1 (Tableau A.8 pour l'analyse incluant le temps de développement et Tableau A.9 pour celle incluant le taux de croissance).

3 – Résultats

a – Influence de la température larvaire sur la croissance/développement et les caractéristiques des adultes

Les différentes conditions de température de développement larvaire ont abouti à des femelles avec différents temps de développement ($\chi^2 = 97,51$; d.l. = 2 ; $p < 0,0001$; Figure P1.7 A). Les femelles ayant grandi à 20°C ont eu un développement plus long (136 ± 3 jours en moyenne), que celles ayant grandi à 24°C et 28°C. Le temps de développement de ces dernières n'est pas significativement différent (à 24°C moyenne \pm erreur standard : 102 ± 3 et à 28°C : 99 ± 3 jours, Figure P1.7 A).

La température larvaire n'a pas eu d'influence sur la masse nymphale des femelles ($\chi^2 = 0,58$; d.l. = 2 ; $p = 0,75$; Figure P1.7 B), ni sur la longueur de leur élytres ($F = 1,13$; d.l. = 2 ; $p = 0,33$; Figure P1.7 D).

Les taux de croissance des femelles sont différents entre les T20 et les deux autres conditions ($F = 46,20$; d.l. = 2 ; $p < 0,0001$; Figure P1.7 C), ce qui est un résultat logique en considérant les deux précédents points (Figure P1.7 C). En moyenne, le taux de croissance était de $1,21 \pm 0,03$ mg/jour à T20, contre $1,58 \pm 0,03$ mg/jour pour les femelles ayant grandi à T24 et de $1,59 \pm 0,04$ mg/jour pour celles ayant grandi à T28.

La température à laquelle les femelles ont été exposée au stade larvaire a eu un impact sur les deux variables liées directement à leur fitness, à savoir la fécondité totale ($\chi^2 = 41,76$; d.l. = 2 ; $p < 0,0001$; Figure P1.7 E) et la survie ($\chi^2 = 9,64$; d.l. = 2 ; $p = 0,008$; Figure P1.7 F). La croissance à 24°C semble représenter une condition optimale en termes de fécondité totale (Figure P1.7 E), car les femelles ayant grandi à cette température ont pondu significativement plus d'œufs (T24 : 148 ± 2 œufs ; T20 : 136 ± 2 œufs et T28 : 128 ± 2 œufs). En ce qui concerne la survie, les insectes maintenus au stade larvaire à T24 et ceux qui ont été maintenus à T20 (Tableau P1.7) présentent les meilleures performances. En revanche, que ce soit pour la

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

fécondité totale (Figure P1.7 E) ou la survie (Figure P1.7 F), les femelles qui se sont développées à 28°C présentent les performances les plus faibles.

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

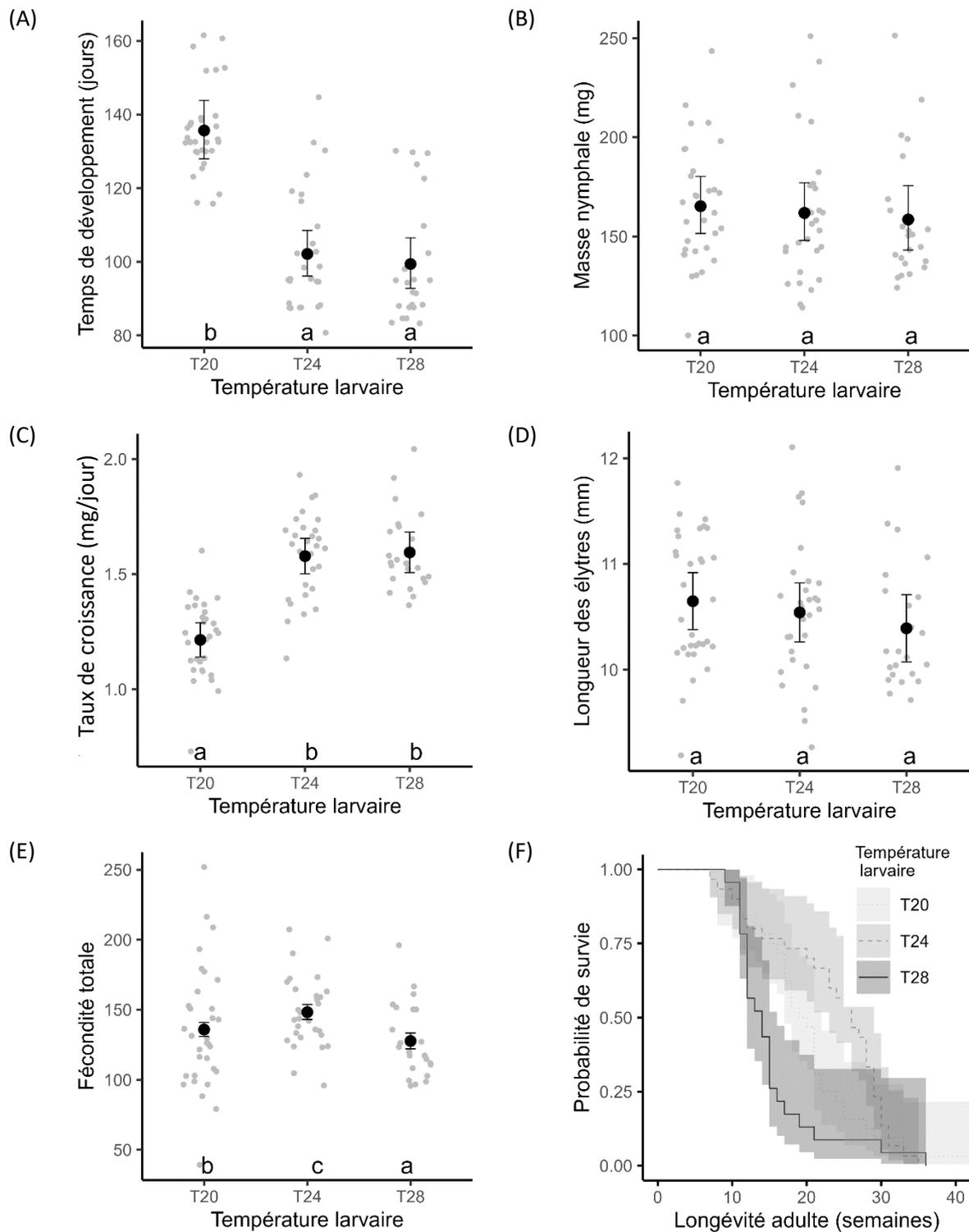


Figure P1.7 : Caractéristiques des femelles ayant grandi dans différentes conditions de température. (A) Temps de développement larvaire, (B) Masse nymphale, (C) Taux de croissance larvaire, (D) Longueur des élytres, (E) Fécondité totale et (F) Probabilité de survie en fonction de l'âge. Les valeurs représentées dans les panneaux de (A) à (C) sont des moyennes \pm intervalle de confiance à 95% et les ombres autour des courbes de survie du panneau (F) correspondent à l'intervalle de confiance à 95%.

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

Tableau P1.7 : Résultats de la régression de Cox pour la survie des femelles ayant grandi dans différentes conditions de température larvaires.

Variabes	β	e.s.	e(β)	Wald	χ^2	d.l.	p
Température					9,64	2	0,008
T20 vs T24	0,34	0,26	1,41	1,31			0,19
T28 vs T24	0,89	0,29	2,45	3,10			0,002
T20 vs T28	-0,56	0,28	0,57	-1,98			0,048

b – Sénescence reproductive

- Effet du temps de développement

Le temps de développement semble avoir peu d'influence sur la sénescence reproductive des femelles ayant grandi dans les différentes conditions de température. En effet, en analysant le nombre d'œufs pondus au cours des deux périodes de reproduction, bien que l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction soit conservée dans le modèle, elle n'est pas significative (Tableau P1.8 B, $p = 0,095$). En revanche, dans le cas de l'analyse de l'indice de sénescence reproductive, les femelles ayant eu un développement plus long présentent une sénescence reproductive marginalement moins marquée (Table P1.8 A, Figure P1.8 A, $p = 0,053$).

D'après l'analyse de l'indice de sénescence reproductive (Tableau P1.8 A), les femelles vivant le plus longtemps sont celles qui présentent la sénescence reproductive la moins prononcée (Figure P1.9 A). Cependant, ce résultat n'est pas confirmé par l'analyse directe du nombre d'œufs : les femelles les plus longévives sont aussi celles qui pondent le plus d'œufs, mais ceci est vrai quelle que soit la période de reproduction (Tableau P1.8 B, Figure P1.9 B), car l'interaction entre la période de reproduction et la longévité adulte n'a pas été retenue dans le modèle (Tableau P1.8 B).

Contrairement aux résultats obtenus avec les femelles ayant grandi dans différentes humidités relatives, la masse nymphale n'a pas d'impact sur l'indice de sénescence actuarielle (Tableau P1.8 A) lorsque les femelles ont grandi sous différentes températures. En revanche, comme pour les femelles qui se sont développées dans les différentes conditions d'humidité relative, les femelles avec les plus grandes masses pondent davantage d'œufs (Tableau P1.8 B). Enfin, la période de reproduction est la variable ayant l'effet le plus fort sur le nombre d'œufs pondus (Tableau P1.8 B), avec une plus grande production d'œufs lors de la période de reproduction précoce par rapport à la période de reproduction tardive (Figure P1.8 B).

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

Tableau P1.8 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du temps de développement larvaire sur la sénescence reproductive pour les femelles ayant grandi dans les différentes conditions de température, estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) les nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction. N = 85 femelles. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ». Les lignes ne présentant pas d'information correspondent aux variables non retenues dans le modèle. Les modèles statistiques testés sont des modèles linéaires mixtes avec comme effet aléatoire (A) la température larvaire ou (B) la température larvaire et l'identité de l'individu puisque dans ce second cas, nous avons deux mesures par femelles (une pour la reproduction précoce et une pour la tardive). Les modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 (Tableau A.6 pour l'analyse de l'indice de sénescence et Tableau A.8 pour celle sur le nombre d'œufs pondus). Les valeurs de p montrant un effet statistiquement significatif ($p < 0,05$) sont en gras.

(A) Indice de sénescence reproductive

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.f.	p
Temps de développement	0,003	0,001	3,74	1	0,053
Temps de développement ²	-	-	-	-	-
Masse nymphale	-0,002	0,001	2,5	1	0,113
Longévité adulte	0,007	0,003	4,13	1	0,042

(B) Nombre d'œufs

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.f.	p
Temps de développement	-0,23	0,14	1,49	1	0,22
Masse avant reproduction	0,36	0,08	20,39	1	< 0,0001
Période de reproduction (Tardive)	-42,79	16,19	27,06	1	< 0,0001
Longévité adulte	0,69	0,2	11,73	1	0,0006
Temps de développement : Période			2,79	1	0,095
Longévité adulte : Période	-	-	-	-	-

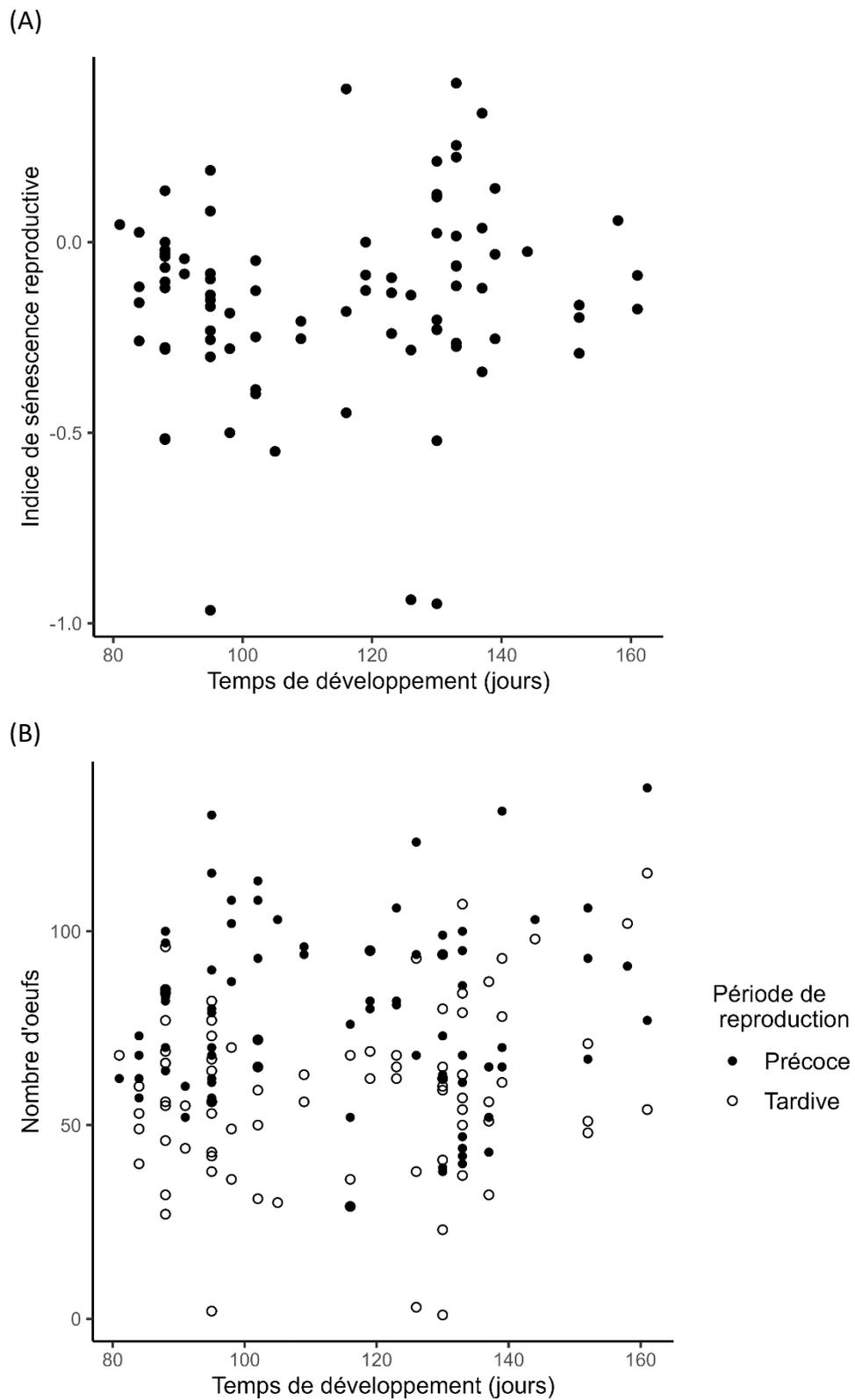


Figure P1.8 : Sénescence reproductive des femelles de *T. molitor* issues de différents régimes de température larvaire en fonction du temps de développement larvaire. La sénescence est illustrée par (A) l'Indice de sénescence reproductive (calculé comme le rapport entre la différence entre les reproductions tardive et précoce, et la fécondité totale) et (B) le nombre d'œufs pondus en périodes de reproduction précoce et tardive. N = 85 pour (A) et (B) avec deux mesures (précoce et tardive) par femelle pour (B).

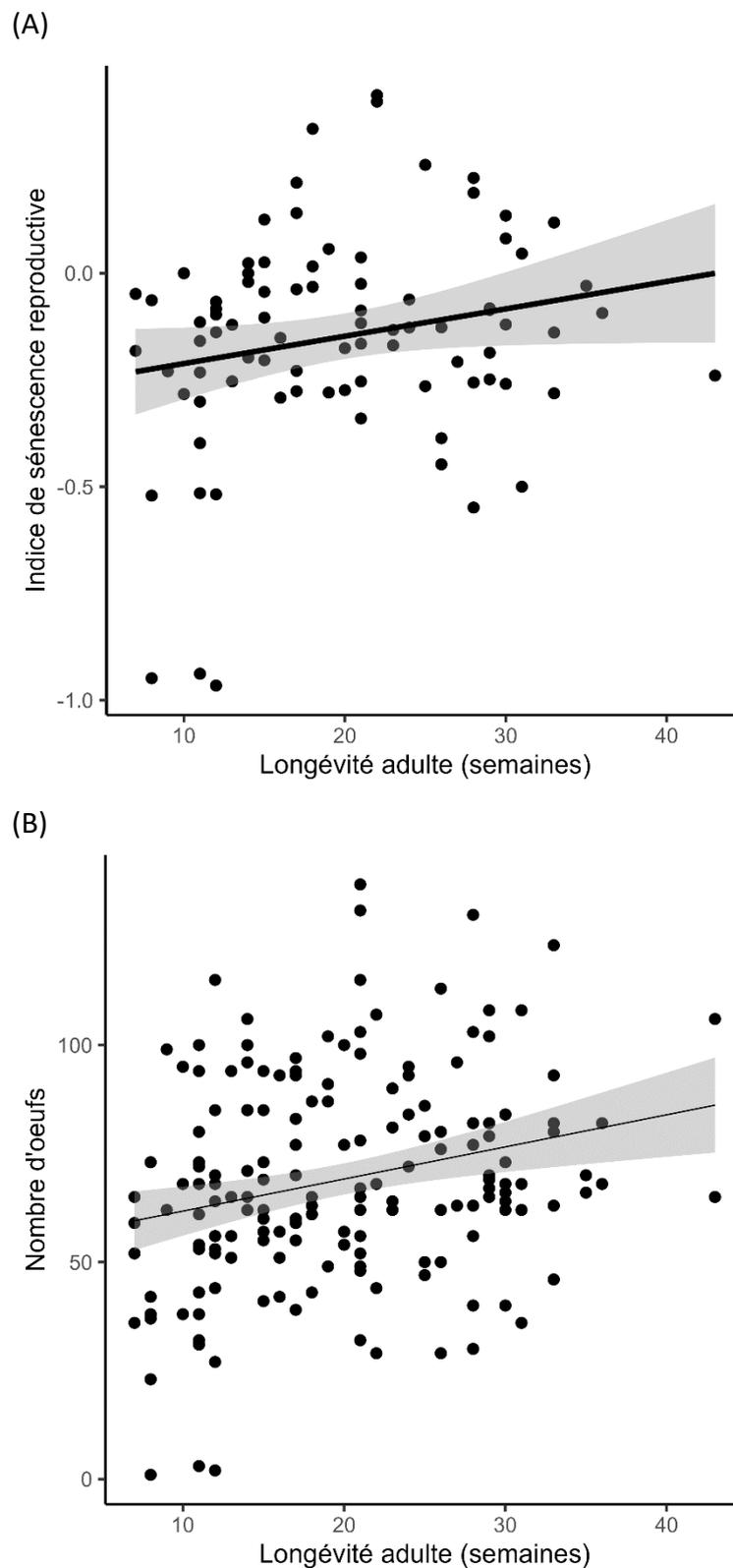


Figure P1.9 : Sénescence reproductive des femelles de *T. molitor* issues des différents régimes de température larvaire en fonction de la longévité au stade adulte. La sénescence est illustrée par (A) l'Indice de sénescence reproductive (calculé comme le rapport entre la différence entre les reproductions tardive et précoce, et la fécondité totale) et (B) le nombre d'œufs pondus en périodes de reproduction précoce et tardive. $N = 85$ pour (A) et (B) avec deux mesures (précoce et tardive) par femelle pour (B). Les droites sont des droites de régressions linéaires avec leurs intervalles de confiance à 95%.

- Effet du taux de croissance

Les résultats des effets de la longévité, la masse nymphale, la masse avant reproduction et la période de reproduction sont les mêmes que précédemment (modèles avec temps de développement). Ainsi, la masse nymphale n'a pas d'effet sur l'indice de sénescence reproductive, étant absente du modèle retenu (Tableau P1.9 A). Les femelles avec les masses les plus grandes avant les périodes de reproduction ont globalement pondu plus d'œufs (Tableau P1.9 B). Les femelles qui ont vécu le plus longtemps au stade adulte sont aussi celles qui ont pondu le plus d'œufs (Tableau P1.9 B, Figure P1.9 B). En ce qui concerne plus directement le lien entre longévité adulte et sénescence reproductive, plus les femelles ont vécu longtemps, plus leur indice de sénescence reproductive est grand et donc leur sénescence limitée (Table P1.9 A, Figure P1.9 A). Malgré cet impact de la longévité adulte sur l'indice de sénescence calculé, son effet sur le nombre d'œufs pondus ne dépend pas de la période de reproduction considérée. En effet, l'interaction entre ces deux variables n'a pas été retenue (Tableau 1.9 B).

Contrairement au temps de développement, le taux de croissance a un impact assez fort sur la sénescence reproductive (Figures P1.10 et Tableaux P1.9). En effet, les femelles qui présentent un taux de croissance fort sont aussi celles qui ont les indices de sénescence reproductive les plus faibles et donc une sénescence reproductive marquée (Figure P1.10 A et Tableau P1.9 A). En analysant directement le nombre d'œufs pondus au cours des deux périodes de reproduction, nous pouvons confirmer et affiner ce résultat (Figure P1.10 B et Tableau P1.9 B). Les femelles caractérisées par des taux de croissance faibles pondent autant d'œufs au cours des périodes de reproduction précoces et tardives. Par contre, les femelles caractérisées par des taux de croissance forts pondent nettement plus d'œufs durant la période de reproduction précoce que pendant la période de reproduction tardive (Figure P1.9 B). Il est à noter que la fécondité tardive de ces deux catégories de femelles est similaire.

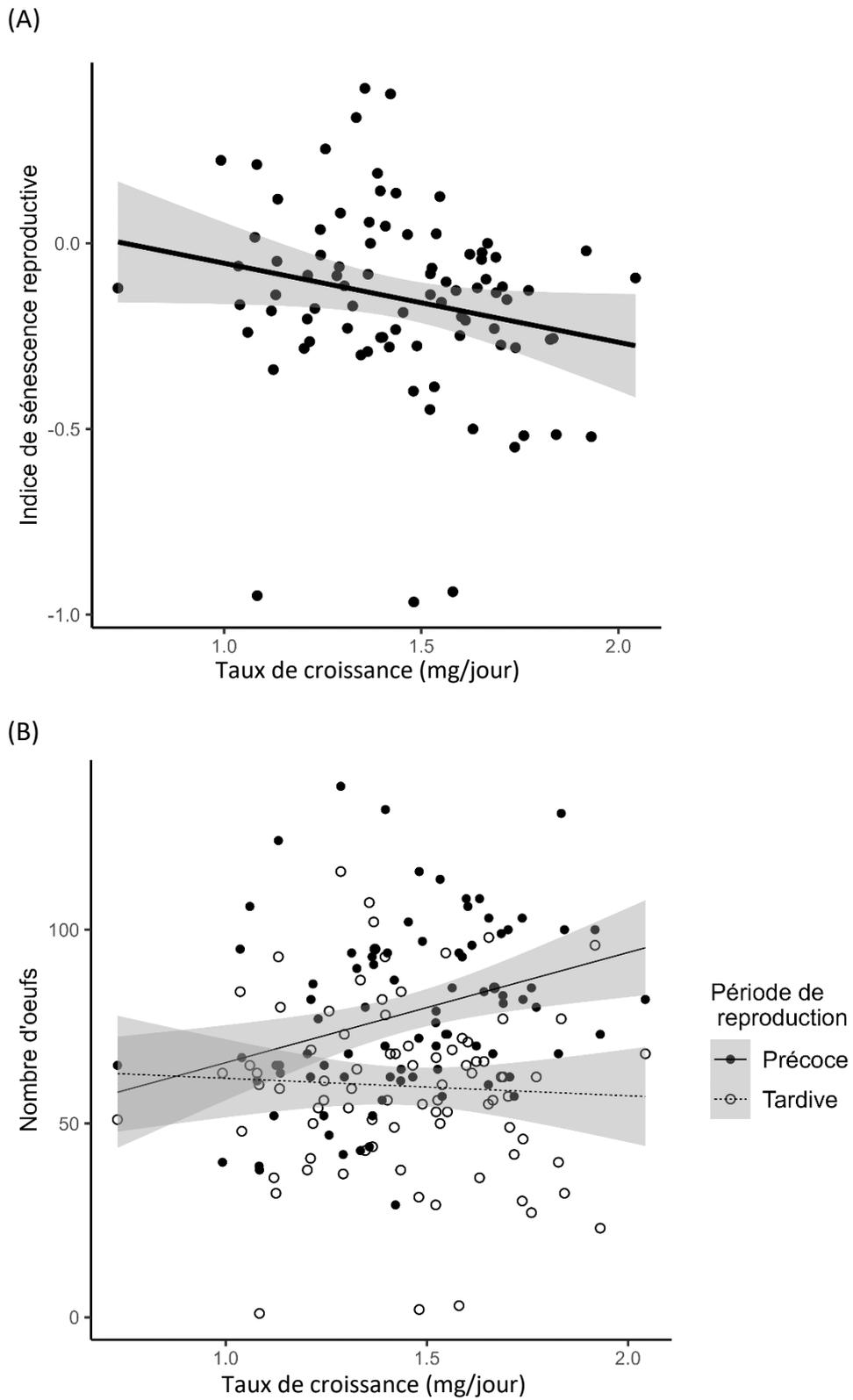


Figure P1.10 : Sénescence reproductive des femelles de *T. molitor* issues de différents régimes de température larvaire en fonction du taux de croissance larvaire. La sénescence est illustrée par (A) l'Indice de sénescence reproductive (calculé comme le rapport entre la différence entre les reproductions tardive et précoce, et la fécondité totale) et (B) le nombre d'œufs pondus en périodes de reproduction précoce et tardive. N = 85 pour (A) et (B) avec deux mesures (précoce et tardive) par femelle pour (B). Les droites sont des droites de régressions linéaires avec leurs intervalles de confiance à 95%.

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

Tableau P1.9 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du taux de croissance larvaire sur la sénescence reproductive pour les femelles ayant grandi dans les différentes conditions de température, estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) les nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction. N = 85 femelles. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ». Les lignes ne présentant pas d'information correspondent aux variables non retenues dans le modèle. Les modèles statistiques testés sont des modèles linéaires mixtes avec comme effet aléatoire (A) la température larvaire ou (B) la température larvaire et l'identité de l'individu puisque dans ce second cas, nous avons deux mesures par femelles (une pour la reproduction précoce et une pour la tardive). Les modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 (Tableau A.7 pour l'analyse de l'indice de sénescence et Tableau A.9 pour celle sur le nombre d'œufs pondus). Les valeurs de p montrant un effet statistiquement significatif ($p < 0,05$) sont en gras.

(A) Indice de sénescence reproductive

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.f.	p
Taux de croissance	-0,22	0,11	4,37	1	0,037
Taux de croissance ²	-	-	-	-	-
Masse nymphale	-	-	-	-	-
Longévité adulte	0,007	0,003	4,22	1	0,04

(B) Nombre d'œufs

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.f.	p
Taux de croissance	-1,27	13	2,37	1	0,12
Masse avant reproduction	0,39	0,09	21,44	1	< 0,0001
Période de reproduction (Tardive)	33,05	17,74	27,57	1	< 0,0001
Longévité adulte	0,7	0,21	10,89	1	0,001
Taux de croissance : Période	-	-	7,87	1	0,005
Longévité adulte : Période	-	-	-	-	-

4 – Discussion

a – Des températures au stade larvaire proches de l'optimum modifient le temps de développement et le taux de croissance, mais n'affectent ni la masse de finale ni la taille de *T. molitor*

La modification de la température lors de la phase larvaire, avec des valeurs proches et encadrant l'optimum d'élevage de *T. molitor* (Ribeiro, Abelho et Costa, 2018), a permis d'obtenir, sans mortalité larvaire, des individus avec des temps de développement et des taux de croissance divers. Comme déjà documenté (Punzo et Mutchmor, 1980; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018), une diminution de la température par rapport à l'optimum (environ 25°C) engendre un temps de développement plus long. Ces mêmes auteurs rapportent également une augmentation du temps de développement lorsque la température est supérieure à l'optimum, à partir d'environ 30°C. Cette valeur n'a pas été dépassée ici, puisque notre condition larvaire de température la plus élevée était d'environ 28°C. Ainsi, en termes de temps de développement, les conditions T24 et T28 étaient similaires en moyenne. Les

femelles T24 et T28 étaient aussi similaires en termes de taux de croissance. Il est à noter que ces résultats ne concordent pas pleinement avec ceux de l'étude de Bjørge *et al.* (2018) sur l'effet de la température sur la croissance et le taux métabolique des larves de *T. molitor*, dans laquelle l'optimum de taux de croissance était atteint à 31°C (28°C n'ayant pas été testé dans l'étude), suggérant forte disparité parmi les populations en termes d'adaptation à la température. Si l'on considère le temps de développement et le taux de croissance des larves de *T. molitor*, 28°C semble donc être dans la fourchette des valeurs de température optimales de croissance pour notre population de laboratoire. Cependant, les femelles T28 étaient moins performantes en termes de fécondité cumulée sur les deux périodes de reproduction considérées, ainsi qu'en termes de longévité. Les conditions de développement/croissance T28 présentent donc un coût en termes de performance à l'âge adulte sans gain visible en termes de temps de développement ou de taux de croissance. De plus, les trois conditions de température ont toutes conduit à des femelles ayant en moyenne la même masse au stade nymphal et la même taille à l'âge adulte. Ce dernier point est à souligner, car cela me permet, contrairement aux sous-chapitres précédents, de ne pas considérer que les femelles issues d'une des conditions commenceraient leur phase adulte avec un avantage disproportionné en termes de qualité individuelle (pas d'effet « *silver spoon* »), et de les comparer plus directement.

On ne peut néanmoins pas se soustraire complètement à d'éventuels effets confondants que la température pourrait avoir sur le métabolisme de *T. molitor* (en général : Gillooly *et al.*, 2001 ; spécifiquement pour *T. molitor*: Bjørge *et al.*, 2018 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018) ou encore sur son activité immunitaire (comme cela a été montré chez d'autres insectes, Adamo et Lovett, 2011 ; Murdock *et al.*, 2012 ; Muturi, Nyakeriga et Blackshear, 2012 ; Fedorka, Lee et Winterhalter, 2013), avec des conséquences généralement négatives possibles sur les performances ultérieures (documentées chez *T. molitor*, Krams *et al.*, 2013). Le fait d'avoir obtenu une grande diversité de temps de développement et de taux de croissance, qui plus est sans différence de masse nymphale ou de taille adulte, a néanmoins permis d'étudier les liens entre vitesse de développement/croissance et sénescence reproductive, tout en prenant en compte les éventuels effets confondants des différences de température dans l'analyse statistique.

b – Une sénescence reproductive dépendante du taux de croissance mais pas du temps de développement

Une diminution des performances reproductives a bien été observée, comme attendu, entre les deux périodes de reproduction (Drnevich *et al.*, 2001 ; Jehan *et al.*, 2020, 2022). Il reste à déterminer si cette sénescence reproductive est liée à la vitesse de croissance ou de développement des larves.

Ni l'indice de sénescence ni l'analyse directe du nombre d'œufs, que ce soit globalement ou en fonction de la période considérée, n'étaient influencés par le temps de développement. En revanche, le taux de développement s'est révélé avoir un impact sur la sénescence actuarielle des femelles de *T. molitor*. En effet, l'indice de sénescence reproductive diminue avec l'augmentation du taux de croissance (l'indice est construit de façon à ce que plus il est petit, plus la sénescence est grande). Ce résultat d'une sénescence accrue accompagnant une croissance rapide suit les prédictions faites par plusieurs théories évolutives de la sénescence. La théorie du soma jetable (Kirkwood, 1977 ; Kirkwood et Rose, 1991) postule en effet que l'investissement dans la croissance se ferait au détriment des fonctions de réparation et de maintien de l'organisme, ce qui pourrait aboutir à une accumulation de dommages et d'erreurs, menant à terme, vers un organisme moins pérenne. Ainsi, l'organisme à croissance rapide (ou à développement rapide, les théories de la sénescence séparant rarement, à part pour les espèces à croissance indéfinie, développement et croissance) aurait un corps « bâclé » (Metcalf et Monaghan, 2003). Dans la théorie développementale du vieillissement (de Magalhães et Church, 2005) et dans la théorie de l'hyperfonction (Blagosklonny, 2012), la plus grande activation des processus impliqués dans le développement et la croissance chez les individus à croissance/développement rapide, devrait induire une sénescence plus précoce ou plus marquée.

L'analyse directe des performances reproductives sur les deux périodes de reproduction (précoce et tardive), nous offre plus de détails sur cette sénescence plus prononcée des femelles ayant connu une croissance rapide. En effet, la relation entre taux de croissance et nombre d'œufs pondus diffère selon que l'on considère la période de reproduction précoce, située lors du pic présumé de fécondité de l'espèce, ou la période tardive. Lors de la période précoce, les femelles ayant grandi rapidement pondent plus d'œufs, tandis que lors de la période tardive le taux de croissance ne semble pas avoir d'influence sur le nombre d'œufs

pondus. Ainsi, la forte sénescence reproductive observée chez les femelles qui ont connu un taux de croissance fort serait la conséquence de leur incapacité à maintenir une fécondité tardive équivalente à leur forte fécondité précoce.

Enfin, les femelles présentant les plus grandes masses avant les périodes de reproduction et vivant le plus longtemps pondaient davantage d'œufs globalement lors des deux épisodes de reproduction. Ce résultat pourrait être interprété comme un effet de la qualité individuelle des femelles. En effet, la masse est un bon indicateur de la qualité chez les insectes (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019) et la longévité est une composante de base de la fitness. De plus, ce résultat est assez intuitif puisque ces femelles avaient davantage d'énergie à investir dans leur reproduction. Enfin, les femelles de *T. molitor* ne semblent pas adopter une stratégie d'investissement terminal (Jehan *et al.*, 2022a), c'est-à-dire que les femelles ne sacrifient pas leur survie au profit de la reproduction actuelle. Leur fitness repose plutôt sur plus d'occurrences de reproduction tout au long de la vie (stratégie de reproduction restreinte). Il est donc d'autant plus logique que les femelles avec les masses les plus faibles ne surinvestissent pas dans la reproduction. Les femelles de *T. molitor* présentant une stratégie de reproduction restreinte sur le long terme, les femelles vivant le plus longtemps sont aussi celles qui font globalement le plus d'œufs.

D – Discussion du Chapitre

Dans ce chapitre, j'ai testé la prédiction de certaines théories de la sénescence, en particulier la théorie du soma jetable (Kirkwood et Rose, 1991), selon laquelle l'ampleur de la diminution des performances reproductives avec l'âge, c'est-à-dire la sénescence reproductrice, augmente quand la vitesse de développement et/ou de croissance augmente. Pour cela, le temps de développement et le taux de croissance des larves de *T. molitor* ont été modifiés via trois conditions de température et trois conditions d'humidité relative. Une fois au stade adulte, les performances reproductives des femelles ont été mesurées via le nombre d'œufs qu'elles ont pondus lors de leur pic de fécondité et plus tard dans leur vie. La deuxième période de reproduction a été choisie pour que la sénescence reproductrice ait commencé, mais que la mortalité due à l'âge soit encore limitée afin d'éviter le phénomène de disparition sélective.

La sénescence reproductrice a été approchée de deux manières complémentaires. Tout d'abord, un indice de sénescence reproductrice a été calculé comme la différence du nombre d'œufs pondus entre la période de reproduction tardive et la période de reproduction précoce, divisée par la fécondité totale des deux périodes. La deuxième façon de traiter la sénescence reproductrice consistait à directement analyser le nombre d'œufs pondus lors des périodes de reproduction, en fonction de ces périodes. Dans ce second cas, l'effet du temps de développement ou du taux de développement était mis en interaction avec la période de reproduction.

1 – Condition environnementale larvaire et vitesse de développement et de croissance

a – Modification du développement et de la croissance via l'humidité relative larvaire : effet « *silver spoon* » susceptible d'engendrer des effets confondants

En plaçant les larves de *T. molitor* dans trois conditions d'humidité relative, leur temps de développement et leur taux de croissance ont fortement été modifiés. Les larves placées dans la condition la moins humide, H55, se sont développées plus lentement et avaient un taux de croissance plus faible. Au contraire, les larves dans la condition H85, avaient un temps de développement plus court et un taux de croissance plus élevé. La condition H70 avait des

valeurs intermédiaires. Le taux de croissance plus élevé dans les conditions plus humides venait de la combinaison d'un temps de développement plus court mais aussi d'une masse nymphale (masse atteinte en fin de phase larvaire) plus importante. Cet effet de l'humidité larvaire sur le temps de développement, le taux de croissance et la masse nymphale était attendu (Punzo et Mutchmor, 1980 ; Hardouin et Mahoux, 2003 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018). En effet, l'accès à l'eau (dans l'air dans cette étude) semble crucial, notamment pour la masse nymphale (Punzo, 1975). Avec cette modification environnementale, une plus grande diversité de temps de développement et taux de croissance a pu être obtenue pour tester notre hypothèse.

Les femelles issues des larves ayant grandi dans les conditions les plus humides, mais replacées dès le stade nymphal dans les conditions standard d'élevage, étaient aussi celles qui présentaient la plus grande taille adulte (estimée à partir de la longueur moyenne des élytres). Elles étaient également celles qui pondaient en moyenne le plus d'œufs sur les deux périodes de reproduction considérées et vivaient le plus longtemps (les deux autres conditions étant similaires pour ces trois traits). Ces derniers points m'ont fait suspecter un effet « *silver spoon* » (Grafen, 1988 ; Lindström, 1999 ; Monaghan, 2008), c'est-à-dire une plus grande qualité globale des individus ayant grandi dans un environnement à 85% HR. En effet, la masse nymphale et la taille adulte sont des critères de qualité chez les insectes (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019). De plus, évidemment, la fécondité et la longévité sont des composantes directes de la fitness. Ce lien fort entre qualité des femelles adultes et condition larvaire peut entraîner des effets confondants pour l'étude de la sénescence reproductive en fonction du temps de développement et du taux de croissance. En effet, les femelles ayant grandi à 85% HR sont à la fois celles qui se sont développées et ont grandi le plus rapidement, mais aussi celles qui avaient la meilleure condition physique en début de vie adulte, notamment visible par leur masse nymphale et leur taille adulte. Cela pourrait fausser le compromis d'allocation d'énergie, prédit par la théorie du soma jetable (Kirkwood et Rose, 1991), que j'étudiais.

Néanmoins, ce possible effet confondant était prévu, c'est pourquoi l'approche choisie dans cette partie implique une autre méthode de modification des vitesses de développement et de croissance des larves de *T. molitor*, à savoir la température, afin de corroborer les résultats obtenus avec les individus ayant grandi dans différentes humidités relatives larvaires.

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

b – Des températures différentes permettent d’obtenir des temps de développement et des taux de croissance différents, mais sans différence de masse nymphale

En plaçant les larves de *T. molitor* dans trois conditions de température (l’optimum documenté et deux valeurs l’encadrants connues pour ne pas être dangereuses pour les larves (Punzo et Mutchmor, 1980 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018)), différents temps de développement et taux de croissance larvaires ont pu être obtenus. Les larves placées à 20°C se sont développées et ont grandi plus lentement que celles maintenues dans les deux autres conditions (T24 et T28). En outre, les masses nymphales et les tailles adultes moyennes des insectes des trois modalités de température étaient similaires. Cette constatation est particulièrement intéressante, car elle laisse penser qu’on ne devrait pas souffrir d’un effet confondant dû à des fortes différences de qualité des individus directement en lien avec leur environnement lors de leur phase larvaire. Cela vient probablement du fait que toutes ces larves ont été placées à 85% HR (les conditions T24 et H85 étant la même). Or, il semble que du point de vue de la qualité de l’individu, si on l’approche par sa masse nymphale et sa taille adulte (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019), la disponibilité de l’eau lors de la croissance est plus cruciale que la température (Ribeiro, Abelho et Costa, 2018), bien qu’une interaction entre température et humidité relative semble ressortir pour des températures ou des humidités relatives extrêmes (donc bien en dehors des valeurs que j’ai utilisées ici). Ainsi, à 85% HR, dans une gamme de température proche de l’optimum, semble être une condition permettant aux femelles de *T. molitor* d’atteindre une masse nymphale et une taille adulte maximisées. Il est cependant nécessaire de noter que les femelles issues des larves placées à 28°C avaient une longévité et une fécondité cumulée réduite par rapport aux deux autres conditions. La condition à 28°C pourrait donc présenter des contraintes cachées, comme une immunité plus importante (comme cela a été montré chez d’autres insectes, Adamo et Lovett, 2011 ; Murdock *et al.*, 2012 ; Muturi, Nyakeriga et Blackshear, 2012 ; Fedorka, Lee et Winterhalter, 2013), entrant en compromis avec le maintien de l’organisme et donc ses performances tardives (documentées chez *T. molitor*, Krams *et al.*, 2013).

La comparaison des deux types de modification de l’environnement permettra de voir si un patron commun de compromis émerge entre croissance et sénescence, malgré les différents effets confondants.

2 – Certaines femelles peuvent conjuguer une forte fécondité et une longue vie adulte

J'ai pu confirmer que les femelles de *T. molitor* présentent probablement une stratégie de reproduction restreinte (Jehan *et al.*, 2020, 2021), en opposition à une stratégie d'investissement terminal. En effet, que les femelles soient issues de larves ayant grandi dans différentes humidités relatives ou de larves ayant grandi sous différentes températures, les femelles qui vivaient le plus longtemps étaient aussi les plus fécondes. Ce résultat ne dépendait pas de l'âge, puisque celui-ci n'était pas lié à la période de reproduction (précoce ou tardive). La qualité des individus, approchée par leur masse, est également un critère important dans la fécondité des femelles, toutes périodes de reproduction confondues. Les femelles ayant la plus forte masse avant la période de reproduction produisent le plus grand nombre d'œufs.

Dans les sous-chapitres A et B, traitant de l'influence de l'humidité relative, les liens positifs entre, d'une part, la longévité et la fécondité et, d'autre part la masse nymphale et la fécondité étaient interprétés comme les conséquences d'un effet « *silver spoon* ». En effet, les femelles H85 étaient à la fois les plus massives et les plus longévives, donc a priori les femelles de meilleure qualité. Cependant, dans le contexte où seule la température larvaire varie (sous-chapitre C), les femelles issues de toutes les conditions de température larvaires présentaient des masses nymphales et des tailles adultes comparables. Elles sont donc, a priori, de qualité équivalente. Cependant, bien que les femelles ayant grandi à 28°C présentaient des masses nymphales similaires à celles issues des deux autres conditions de température (par conséquent de qualité équivalent), elles vivaient significativement moins longtemps. Par conséquent, la relation entre la longévité et la masse nymphale ne peut pas être expliquée seulement par une différence de qualité globale des individus. Il semble alors que la relation entre la longévité et la fécondité serait une relation générale et non la résultante d'un contexte environnemental particulier. Par conséquent, cette relation générale positive entre longévité et fécondité est cohérente avec l'adoption d'une stratégie de reproduction restreinte, où les femelles privilégient une reproduction relativement modeste tout au long de leur vie (avec toutefois un patron de production d'œufs décroissant entre le jeune âge et l'âge plus avancé).

3 – Les femelles de *T. molitor* ayant grandi le plus rapidement sont celles qui présentent la sénescence reproductive relative la plus marquée

Comme attendu, pour les deux types de modification environnementale larvaire, j'ai bien observé une baisse du nombre d'œufs pondus par les femelles entre la période précoce de reproduction et la période plus tardive, attestant d'une sénescence reproductive (Dick, 1937 ; Jehan *et al.*, 2021).

Avec les deux types de modifications environnementales larvaires, les résultats étaient similaires quant à la relation entre sénescence reproductive et vitesse de développement et/ou de croissance. Pour ces deux types de modifications, l'influence du temps de développement larvaire et du taux de croissance larvaire ont été testés séparément malgré le fait que ces deux traits soient biologiquement et mathématiquement liées. Notons d'ailleurs que les théories de la sénescence font rarement la distinction entre l'effet du développement et celui de la croissance, sauf dans le cas des espèces présentant une croissance post-maturité comme les espèces à croissance indéfinie (Vaupel *et al.*, 2004). Cependant, si certaines prédictions des théories sont similaires avec le taux et le temps de croissance, les mécanismes proposés ne sont cependant pas les mêmes. La théorie du soma jetable prévoit un compromis d'allocation de ressources entre le développement et le maintien de l'organisme, aboutissant à une accumulation de dommages finissant par produire un déclin de l'organisme, la sénescence (Kirkwood, 1977 ; Kirkwood et Rose, 1991). En outre, comme noté en introduction, le compromis concernant le taux de croissance et la sénescence implique un phénomène physiologique d'investissement de ressources, alors que le compromis concernant le temps de développement implique, en plus, un risque temporel d'infection. Ces implications théoriques justifient leurs analyses séparées.

Le temps de développement n'a pas d'effet, ni sur l'indice de sénescence reproductive ni sur le nombre d'œufs pondus. Cette absence d'effet du temps de développement est étonnant, que ce soit du point de vue théorique (Medawar, 1952 ; Williams, 1957) ou du point de vue empirique. En effet, des relations entre temps de développement et sénescence reproductive ont déjà été rapportées. Par exemple, dans le complexe d'espèce *Daphnia culex-pulicaria*, les femelles appartenant à des populations vivant sous un stress important présentaient à la fois un temps de développement plus court et une sénescence reproductive accrue, se traduisant

par une fécondité diminuant plus tôt et plus rapidement (Dudycha et Tessier, 1999). L'expérience d'évolution expérimentale de Stearns *et al.* (2000) sur *Drosophila melanogaster* a montré que les mouches des lignées subissant davantage de mortalité extrinsèque adulte présentaient à la fois un temps de développement réduit et une sénescence reproductive plus précoce. Notons cependant que ces études i) ne considéraient pas le taux de croissance (et qu'une confusion taux/temps était possible), et ii) reposaient sur des comparaisons de populations ou de lignées, donc sur des fonds génétiques différents, contrairement à la présente étude.

Le taux de croissance a eu, quant à lui, un effet sur la sénescence reproductive. Les femelles ayant grandi le plus rapidement étaient aussi celles présentant un indice de sénescence reproductive le plus faible, indiquant une sénescence plus marquée. Ce résultat est en accord avec la théorie du soma jetable qui propose un compromis entre performance précoce (ici la vitesse de croissance) et tardive (le maintien de la fécondité). Nous pouvons ici noter une légère différence entre nos deux types de modifications environnementales larvaires, peut-être due à des traitements statistiques différents (l'humidité relative larvaire inclue comme covariable ou la température comme facteur aléatoire), car dans le cas des femelles ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative, cette relation est surtout présente pour les H85, qui sont aussi les femelles pour lesquelles un effet « *silver spoon* » est suspecté. Ainsi, ce n'est que parmi ces individus « privilégiés » que le compromis entre croissance et sénescence reproductive attendu est trouvé.

L'analyse directe du nombre d'œufs pondus selon la période de reproduction apporte davantage de détails. Les femelles qui présentent le plus fort taux de croissance présentent également une plus forte fécondité précoce, alors que le taux de croissance n'a pas d'influence sur le nombre d'œufs pondus en période tardive. Ainsi, la baisse de fécondité est beaucoup plus prononcée entre tôt et tard dans la vie chez des femelles qui ont grandi rapidement. La fécondité des femelles ayant grandi plus lentement est stable entre les deux périodes de reproduction. La sénescence reproductive accrue des femelles à croissance rapide vient donc d'une fécondité initiale plus importante plutôt que d'une fécondité tardive plus faible par rapport aux femelles à croissance lente. Ce résultat ne semble pas cohérent avec la théorie du soma jetable, dans laquelle, ce serait plutôt le second cas qui serait attendu. Dans le cas des femelles de ténébrion ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative, la

meilleure qualité des individus sous forte humidité pouvait expliquer un plus grand investissement dans la reproduction avec des répercussions amoindries. Par contre, un tel phénomène ne peut pas expliquer cet excès de fécondité des femelles à fort taux de développement dans les différentes conditions de température.

Néanmoins, seuls deux points ont été mesurés dans la trajectoire de fécondité des femelles de *T. molitor*. Le second point, bien que tardif, ne mesure pas une fécondité chez des femelles très âgées, puisque nous verrons plus loin qu'un âge de 50 jours de vie adulte peut être assez facilement dépassé chez les ténébrions. Ainsi, avec seulement deux points, la constatation de la plus grande diminution du nombre d'œufs pondus par les femelles à croissance larvaire rapide s'opère, mais sans savoir quand cette diminution a commencé, ni si elle se poursuit plus tard. En particulier, on ne sait pas si cette diminution de fécondité conduira à une fécondité plus faible chez les femelles à développement rapide que celles à développement lent à un âge plus avancé. Dans l'étude de Jehan *et al.* (2020), où la sénescence reproductive était étudiée jusqu'à l'âge de 11 semaines, les femelles ont présenté des trajectoires de sénescence reproductive variables en fonction de leur effort de reproduction. Un croisement des patrons de sénescence, où les femelles âgées d'un groupe montraient une fertilité moindre que celles des autres groupes, n'a été observé qu'après la 6^{ème} semaine (soit aux environs la seconde mesure de notre présente étude). Il aurait donc été intéressant d'obtenir au moins une troisième mesure de fécondité, plus tardive. Ce type d'étude pourrait cependant présenter un problème de disparition sélective (Vaupel, Manton et Stallard, 1979 ; Nussey *et al.*, 2011), que j'ai cherché à éviter ici, puisque, passé environ 60 jours, la mortalité des adultes *T. molitor* commencent à augmenter rapidement (Jehan *et al.*, 2020).

Conclusion

Le temps de développement, contrairement au taux de croissance, n'a pas d'impact sur la sénescence reproductive des femelles *T. molitor*. Comme attendu, notamment dans la théorie du soma jetable, un taux de croissance plus fort est accompagné d'une sénescence reproductive plus forte, c'est-à-dire une plus grande diminution de la fécondité entre tôt et tard lors de la phase adulte. Néanmoins, cette sénescence accrue est principalement due à l'existence d'une fécondité précoce plus forte chez les femelles ayant grandi rapidement. Ce constat rend nécessaire l'étude de la trajectoire de la fécondité des femelles de *T. molitor* au

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

cours de leur vie afin d'établir notamment l'âge du seuil du début de la sénescence reproductive et sa trajectoire en fin de vie.

IV – Chapitre 2 : Influence de l’environnement larvaire sur la croissance et la sénescence actuarielle

A – Introduction

La théorie du soma jetable, notamment, prévoit que, puisque l’énergie disponible est limitée et que les fonctions de l’organisme sont énergivores, un investissement plus grand dans la croissance et/ou le développement devrait se faire au détriment de l’investissement dans le maintien de l’organisme (Kirkwood, 1977 ; Kirkwood et Rose, 1991 ; Drenos et Kirkwood, 2005). D’autres théories de la sénescence, dites de la sénescence « quasi-programmée », comme la théorie développementale (de Magalhães et Church, 2005) ou la théorie de l’hyperfonction (Blagosklonny, 2012), lient également développement/croissance et sénescence via l’inadéquation fonctionnelle des processus impliqués dans le développement et la croissance une fois l’âge adulte atteint. Ainsi, l’une des hypothèses les plus testées, et souvent validée, sur les relations entre performances précoces et tardives est celle selon laquelle des performances précoces élevées s’accompagnent d’une augmentation de la sénescence actuarielle (voir Lemaître *et al.* (2015) pour une synthèse chez les vertébrés en milieu naturel). Cette dernière est souvent simplement approchée par une observation d’une diminution de la longévité suite à diverses manipulations des performances précoces (par exemple chez *D. melanogaster* (Stearns *et al.*, 2000) ou chez *Lestes viridis* (Janssens et Stoks, 2018) ou encore chez le nématode *Caenorhabditis remanei* (Lind *et al.*, 2017)). Une autre façon de mesurer la sénescence actuarielle est de modéliser les trajectoires de mortalité âge-spécifiques, ce qui permet de décrire plus en détail la « forme » de la sénescence, par exemple le fait que la diminution de la probabilité de survie peut démarrer plus tôt et/ou être plus forte dans certaines conditions (Carey et Judge, 2000 ; Gaillard *et al.*, 2004 ; Angell *et al.*, 2020).

La « performance précoce » généralement mise en opposition avec la longévité est la reproduction en début de phase adulte (Kirkwood, 2005 ; Johnson, Shokhirev et Shoshitaishvili, 2019). Cependant, les vitesses de développement et de croissance sont également prédites comme potentiellement coûteuses à long terme. C’est cette hypothèse qui sera testée dans ce chapitre. Elle le sera chez des adultes de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température et d’humidité relative, permettant d’obtenir une grande variabilité de temps de développement et de taux de croissance.

B – Matériel et méthodes

1 – Origine des individus et conditions larvaires

Le matériel et méthodes de l'expérience ayant permis l'acquisition de ces données est présenté en détail dans la section « Matériel et méthodes » de la partie 1. Pour résumer brièvement, 300 larves de *T. molitor* dont nous connaissons la date de ponte ont été réparties dans trois conditions de température (T20 : 20 ± 1 °C, 85 ± 5 % HR ; T24 : 24 ± 1 °C, 85 ± 5 % HR ; T28 : 28 ± 1 °C, 85 ± 5 % HR) et trois conditions d'humidité relative (H55 : 55 ± 5 % HR, 24 ± 1 °C ; H70 : 70 ± 5 % HR, 24 ± 1 °C ; H85 : 85 ± 5 % HR, 24 ± 1 °C). L'une des conditions était commune aux deux types de condition environnementale larvaire : T24 ou H85.

Lorsque les larves ont atteint leur nymphose, elles ont été pesées et transférées dans les conditions standard d'élevage (24 ± 1 °C et 70 ± 5 % HR). Le moment de leur nymphose permet d'obtenir leur temps de développement et à partir du rapport entre la masse nymphale et ce temps de développement, nous avons calculé les taux de croissance des insectes. Le moment de l'émergence des insectes était également noté.

Au cours de leur vie adulte, les individus considérés dans ce chapitre étaient les mêmes que ceux du chapitre 1, ayant subi deux périodes de reproduction de 10 jours, une à partir de 10 jours post-émergence et l'autre à partir de 40 jours post-émergence.

Les insectes étaient surveillés de façon hebdomadaire pour relever le moment de leur mort. Après leur mort, la longueur de leurs élytres a été mesurée.

La répartition des effectifs par condition larvaire est présentée dans le Tableau P1.1.

2 – Analyses

Toutes les analyses ont été faites sur R studio version 2022.12.0 avec la version 4.1.2 de R (R Core Team, 2022).

a – Influence de la température larvaire sur la croissance et les caractéristiques des adultes

Dans un premier temps, les adultes (mâles et femelles) issus des larves qui ont connu différentes conditions de température et d'humidité relative pendant leur développement

larvaire ont été comparés pour leur temps de développement, leur masse nymphale, leur taux de croissance, la longueur de leur élytre et leur longévité adulte. Chacune de ces mesures a été analysée en fonction de la température ou de l'humidité relative larvaire et du sexe. Lorsque les données suivaient une distribution normale et que l'homoscédasticité des variances entre les conditions larvaires et le sexe étaient respectées, un modèle linéaire était alors utilisé (package stats, fonction lm (R Core Team, 2022)). C'était le cas pour le taux de croissance et la longueur des élytres pour les conditions de température larvaire variables. Dans les autres cas, des modèles linéaires généralisés (package stats, fonction glm (R Core Team, 2022)) avec une loi de distribution gamma et une fonction de lien logarithme (temps de développement, masse nymphale, taux de croissance pour la comparaison des conditions d'humidité relative larvaire, longueur des élytres pour la comparaison des conditions d'humidité relative larvaire) ont été utilisés. Enfin, l'influence de l'environnement larvaire sur la longévité des adultes a été analysée au moyen de régressions de Cox (package survival, fonction coxph (Therneau *et al.*, 2022)).

b – Sénescence actuarielle

L'effet de la vitesse du développement et de la croissance sur la longévité au stade adulte des *T. molitor* issus des larves ayant grandi dans les différentes conditions larvaires de température et d'humidité relative a été testé. Pour cela, une sélection de modèle exhaustif à partir d'un modèle incluant le temps de développement ou le taux de croissance, la masse nymphale comme indice de qualité et le sexe a été effectuée. Les modèles étaient des modèles linéaires mixtes avec, comme facteur aléatoire la condition environnementale larvaire (température ou humidité relative) (modèles mixtes établis avec le package lme4, fonction lmer (Bates *et al.*, 2023)). Tous les modèles présentant un écart de valeur d'AIC de 2 ou moins par rapport au modèle présentant le plus faible AIC, ont été considérés comme les modèles les plus appropriés pour expliquer la variation d'indice de sénescence (Galipaud, Gillingham et Dechaume-Moncharmont, 2017) (pour les meilleurs modèles et leur AIC, voir Annexe 1 – Tableaux A.10 et A.11 pour les analyses avec les *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température avec, respectivement, le temps de développement et le taux de croissance ; et Annexe 1 – Tableaux A.12 et A.13 pour les analyses avec les *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative avec, respectivement, le temps de développement et le taux de croissance).

Afin d'établir l'effet de la vitesse du développement ou de la croissance sur la probabilité de survie de *T. molitor* au cours de son stade adulte, nous avons utilisé des régressions de Cox. Ces régressions ont inclus les variables explicatives suivantes : le temps de développement ou le taux de croissance, la longueur des élytres en tant qu'indicateur de la qualité individuelle, et le sexe. La température ou l'humidité relative expérimentées au stade larvaire étaient incluses comme facteurs aléatoires (packages *coxme*, *survival* et *survminer*, fonction *coxme* (Kassambara *et al.*, 2021; Therneau *et al.*, 2022)). L'hypothèse de proportionnalité des risques de mortalité n'était pas vérifiée dans le cas de l'analyse de l'effet du temps de développement et du taux de croissance parmi les insectes dont la température larvaire avait été modifiée. Aussi une dépendance au temps de l'effet des variables explicatives a dû être intégrée (Anavatan et Karaöz, 2013). Les modèles dont les résultats sont présentés résultent d'une sélection exhaustive en se basant sur un écart minimal d'une valeur d'AIC de 2 par rapport à l'AIC le plus faible (pour les meilleurs modèles et leur AIC, voir Annexe 1 – Tableaux A.14 et A.15 pour les analyses avec les *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température avec, respectivement, le temps de développement et le taux de croissance ; et Annexe 1 – Tableaux A.16 et A.17 pour les analyses avec les *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative avec, respectivement, le temps de développement et le taux de croissance).

La sénescence actuarielle a été également caractérisée par la modélisation des taux de mortalité âge-spécifiques dans chaque condition d'environnementale larvaire, afin d'obtenir des paramètres de sénescence. Les paramètres suivants ont été estimés : le coefficient de sénescence (b), l'indice de sénescence (ω), ainsi que le seuil marquant le début de la sénescence. Comme expliqué par Fukui *et al.* (1993), la modélisation de la mortalité des 10% d'individus les plus longévifs d'un groupe peut s'avérer complexe en raison de la dispersion de la mortalité lorsqu'il reste peu d'individus. Conformément à la proposition de Wilson (1994), les 10% d'individus les plus longévifs de chaque groupe issu d'une condition environnementale larvaire ont été exclus avant l'estimation des paramètres de sénescence actuarielle. Par la suite, un modèle de Gompertz (Gompertz, 1825) a été établi à partir des taux de mortalité âge-spécifiques observés dans ces groupes. Les taux de mortalités âge-spécifiques ont été calculés à partir de la longévité adulte (exprimée en semaine) et correspond pour chaque âge (t) à :

$$\text{Mortalité à l'âge } (t) = \frac{\text{Nombre de mort à l'âge } (t)}{\text{Nombre de vivant à l'âge } (t - 1)}$$

Les modèles de Gompertz sont couramment employés pour étudier la sénescence actuarielle (Carey, 2001 ; Carey et Judge, 2000 ; Ricklefs et Scheuerlein, 2002 ; Tai et Noymer, 2018) car leurs paramètres sont associés à des mesures de la mortalité, dont l'une est liée à la sénescence. Il s'agit de la fonction :

$$\text{Mortalité âge spécifique} = a \times e^{b \times \text{âge}}$$

où a correspond à un paramètre de mortalité intrinsèque et b au coefficient de sénescence actuarielle.

Les paramètres de Gompertz (a et b) ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% pour chaque groupe de conditions environnementales larvaires ont été déterminés par ajustement de fonction non linéaire à l'aide de la méthode des moindres carrés (package stats, fonction nls (R Core Team, 2022)). Etant donné que ce type de fonction d'optimisation nécessite des valeurs initiales des paramètres, celles-ci ont été obtenues par une boucle d'optimisation utilisant également la méthode des moindres carrés. Lors de la détermination des paramètres de la fonction de Gompertz, les points expérimentaux, correspondant aux taux de mortalité âge-spécifiques ont été pondérés en utilisant la racine carrée du nombre d'individus vivants à l'âge $t-1$, ce qui a pour effet de limiter le poids des derniers individus les avancés en âge, pour lesquels un faible nombre de morts représente une forte variation de mortalité.

Un indice de sénescence actuarielle, ou taux de sénescence (exprimé par unité de temps) a également été calculé à partir des paramètres du modèle de Gompertz généré précédemment, conformément aux recommandations de Rickleff & Scheuerlein (2002) :

$$\omega = \sqrt{a \times b}$$

Enfin, le moment seuil marquant le début de la sénescence actuarielle (désigné ci-après S) a été déterminé en utilisant une régression linéaire par morceaux (package segmented, fonction segmented (Muggeo, 2008)) pour estimer un point caractéristique indiquant un changement de tendance. Le début de la sénescence actuarielle a été défini comme correspondant à ce point de changement de tendance (Reinhardt, Naylor et Siva-Jothy, 2009). Pour chaque groupe d'adultes issus des différentes conditions larvaires, le point correspondant au seuil de

début de la sénescence actuarielle a été estimé à partir des taux de mortalité âge-spécifiques prédits par le modèle de Gompertz. Des seuils de début de sénescence ont aussi été calculés à partir des taux de mortalité âge-spécifiques observés. Cependant, certains seuils se sont avérés difficiles à estimer, probablement en raison de la structure des données comportant beaucoup de fluctuations (même avec le retrait des individus vivant le plus vieux), où par moments aucun n'individu ne mourrait, suivi de périodes où un ou plusieurs décès survenaient (par exemple Figure P1.12, T28). Pour la suite de l'analyse, les seuils déterminés à partir des prédictions des modèles de Gompertz ont été utilisés. Néanmoins, les seuils obtenus directement avec les observations sont aussi disponibles en Annexe 2 – Figures A.2 et A.3.

Pour cette étape de modélisation, il a été choisi de regrouper les mâles et les femelles afin de faciliter la détermination des paramètres de sénescence, ce qui a entraîné une augmentation de la taille de l'échantillon et une réduction de la variation observée aux âges avancés. Les différences entre sexes feront l'objet d'études ultérieures. Comme il n'est possible d'obtenir qu'une seule valeur de coefficient de sénescence (b), de l'indice de sénescence (ω) et du seuil de sénescence (S) par groupe d'adultes issus de chaque condition larvaire de développement, aucune relation statistique n'a pu être établie entre ces valeurs et le temps de développement ou le taux de croissance moyen des groupes. Par conséquent, ces résultats seront discutés de manière qualitative uniquement.

C – Résultats

1 – Influence de la température et l'humidité environnementale larvaire sur le développement, la croissance et les caractéristiques phénotypiques des insectes

Contrairement au chapitre précédent, qui traitait de la sénescence reproductive et se concentrait exclusivement sur les femelles, le présent chapitre inclut les mâles et les femelles dans les analyses. Comme précédemment, j'ai caractérisé les différences en termes de temps de développement, masse nymphale, taux de croissance, longueur des élytres et survie entre les trois conditions larvaires de température (T20, T24 et T28) et les trois conditions larvaires d'humidité relative (H55, H70 et H85), cette fois en prenant en compte les deux sexes. Cependant, il est important de noter que le sexe a rarement un impact significatif, et par

conséquent, les résultats sont très similaires à ceux présentés précédemment, qui ne considéraient que les femelles (Chapitre 1 sections B-4-a pour les conditions d'humidité relative et D-3-a pour les conditions de température, respectivement illustrées par les Figures P1.1 et P1.7). Par ailleurs, l'étude des interactions entre le développement ou la croissance et le sexe en ce qui concerne la sénescence n'est pas abordée ici. Ce sujet fera l'objet d'analyses ultérieures, et par conséquent, aucune interaction entre le sexe et les modalités environnementales n'a été intégrée. Les illustrations et les descriptions détaillées des différences de temps de développement, masse nymphale, taux de croissance, longueur des élytres et survie des conditions de température et d'humidité relative larvaires sont disponibles en Annexe 3. Néanmoins, ces éléments serviront également de base pour les discussions à venir, l'essentiel sera donc résumé ici.

Les larves placées dans les différentes conditions de température ont eu des temps de développement différents. Les larves exposées à 20°C (T20) se sont développées plus lentement que celles des deux autres conditions (T24 et T28). Ces dernières ont montré des temps de développement similaires. Les masses des nymphes et les longueurs d'élytres obtenues avec cette modification de la température larvaire étaient comparables entre les trois conditions. En conséquence, le taux de croissance, calculé à partir du temps de développement et de la masse nymphale, a également montré des résultats similaires, avec les T20 ayant une croissance plus lente que les autres conditions de température. Les adultes issus des larves ayant grandi à 28°C ont eu une durée de vie plus courte que ceux des autres conditions de température, qui étaient similaires entre elles. Les comparaisons entre les sexes n'ont pas révélé de différences significatives pour ces mesures, bien que l'on puisse noter une tendance marginale des femelles à avoir un développement légèrement plus court que les mâles ($\chi^2 = 3,45$; d.l. = 1 ; $p = 0,06$).

En ce qui concerne les conditions d'humidité relative larvaire, elles ont engendré davantage de variabilité entre les groupes. Les individus ayant grandi dans la condition la plus humide, à 85% HR, ont présenté un développement plus court, une masse nymphale plus importante, une plus grande taille adulte, et par conséquent, un taux de croissance plus grand que les deux autres conditions (H55 et H70). Les H55 ont suivi des tendances opposées, avec un développement larvaire plus long et un taux de croissance plus faible, des nymphes plus légères et des adultes plus petits. En ce qui concerne la survie des adultes, contrairement aux

résultats obtenus précédemment avec les femelles uniquement (Chapitre 1 Figure P1.1), où les femelles issues des larves ayant grandi à 85% HR vivaient plus longtemps que les autres, l'analyse incluant à la fois les mâles et les femelles n'a pas montré de différence significative en termes de longévité au stade adulte entre les différentes conditions d'humidité relative larvaire. Il est à noter que le sexe n'a pas eu d'effet sur la survie. Ces résultats laissent toutefois envisager l'existence d'une interaction entre la condition d'humidité larvaire et le sexe pour la survie. Cependant, les effets du sexe sur le développement, la croissance ou la sénescence n'étaient pas les principales préoccupations de cette étude. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été observée entre mâles et femelles en ce qui concerne la masse nymphale et la longueur des élytres. De plus, comme pour les individus exposés à des températures différentes au stade larvaire, les mâles ont montré une tendance à un développement légèrement plus long ($\chi^2 = 3,76$; d.l. = 1 ; $p = 0,053$). Cette tendance se confirme lorsque l'on considère le taux de croissance, les femelles se développant significativement plus vite que les mâles ($\chi^2 = 7,17$; d.l. = 1 ; $p = 0,007$).

2 – Sénescence actuarielle

a – Développement et longévité lors de la phase adulte

Aucun effet de la vitesse du développement ou de la croissance n'a été détecté sur la longévité, que ce soit pour les adultes ayant fait leur phase larvaire dans différentes conditions de température ou ceux l'ayant faite à différentes humidités relatives. En effet, dans le cas des conditions de température, aucun modèle n'a dépassé le modèle nul (Annexe 1 – Tableaux A.10 et A.11). Ainsi, ni la masse nymphale, ni le sexe n'avait d'effet. Pour les conditions d'humidité relative, la masse nymphale est seule dans le meilleur modèle, mais n'a pas d'effet significatif ($\chi^2 = 0,84$; d.l. = 1 ; $p = 0,36$). Toujours pour les conditions d'humidité relative, quand le modèle le plus complexe contenait le taux de croissance, il est en compétition avec la masse nymphale dans les meilleurs modèles, mais n'est pas, lui non plus, significatif ($\chi^2 = 0,46$; d.l. = 1 ; $p = 0,50$).

b – Régressions de Cox

Aucun effet de la vitesse du développement ou de la croissance sur les probabilités de survie au cours du stade adulte de *T. molitor* n'a été observé. En effet, en considérant les individus ayant grandi dans les différentes conditions de température, ni le temps de développement,

ni le taux de croissance n'ont été retenus dans les meilleurs modèles (Tableau P1.10). De même, pour les individus qui se sont développés dans les trois conditions d'humidité relative, le temps de développement et le taux de croissance sont présents dans les meilleurs modèles, mais leurs effets ne sont pas significatifs (Tableau P1.11 A et B). Il est également à noter qu'aucune autre variable n'a été retenue dans le modèle présenté pour ces individus.

Tableau P1.10 : Analyse de survie de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température larvaires au moyen de régressions de Cox, en utilisant le temps de développement et le taux de croissance. Ces régressions ont intégré la température larvaire comme en tant qu'effet aléatoire. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ». En raison d'une violation de l'hypothèse de proportionnalité inhérente aux régressions de Cox, une dépendance au temps a été introduite dans les modèles. Les meilleurs modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 – Tableaux A.14 et A.15. β est le coefficient de régression de la variable et e.s, son erreur standard. $e(\beta)$ correspond au ratio de risque associé chaque variable. Si ce ratio est significatif sa comparaison à 1 indique si la variable est protectrice ou délétère pour la survie ($e(\beta) < 1$: effet protecteur ; $e(\beta) > 1$: effet délétère). La significativité, indiqué par la valeur p, est calculée à partir de la statistique de Wald. Les $e(\beta)$ statistiquement significatifs et leur p ($p < 0,05$) sont en gras. Étant donné que ni le temps de développement, ni le taux de croissance n'ont été retenus dans les modèles, un seul tableau est présenté ici.

Variabes	β	e.s.	$e(\beta)$	Wald	p
Temps de développement ou Taux de croissance	-	-	-	-	-
Longueur des élytres	-1,60	0,69	0,20	-2,32	0,021
Sexe (Mâle vs Femelle)	-	-	-	-	-
Temps de développement : Temps	-	-	-	-	-
Longueur des élytres : Temps	0,60	0,24	1,83	2,48	0,013
Sexe : Temps	-	-	-	-	-

Dans le cas des adultes ayant été exposé à des températures variables au stade larvaire, les individus les plus grands bénéficient d'une probabilité de survie plus élevée en vieillissant (Tableau P1.10, $e(\beta) = 0,20$). Ce bénéfice semble néanmoins se réduire au cours du temps, comme le montre le coefficient de l'interaction entre la longueur des élytres et le temps, supérieur à 1 (Tableau P1.10).

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

Tableau P1.11 : Analyse des survies des *T. molitor* ayant grandi dans les différentes conditions d'humidité relative larvaires via des régressions de Cox avec comme mesure du développement larvaire (A) le temps de développement et (B) le taux de croissance. La régression intègre un effet aléatoire de l'humidité relative larvaire. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ». Les meilleurs modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 – Tableaux A.16 et A.17. β est le coefficient de régression de la variable et e.s, son erreur standard. $e(\beta)$ correspond au ratio de risque de la variable. Si ce ratio est significatif sa comparaison à 1 indique si la variable est protectrice ou délétère pour la survie ($e(\beta) < 1$: effet protecteur ; $e(\beta) > 1$: effet délétère). La significativité, indiqué par la valeur p, est calculée à partir de la statistique de Wald. Les $e(\beta)$ statistiquement significatifs et leur p ($p < 0,05$) sont en gras.

(A) Modèle avec temps de développement

Variable	β	e.s.	$e(\beta)$	Wald	p
Temps de développement	0,004	0,003	1	1,23	0,22
Longueur des élytres	-	-	-	-	-
Sexe (Mâle vs Femelle)	-	-	-	-	-

(B) Modèle avec taux de croissance

Variable	β	e.s.	$e(\beta)$	Wald	p
Taux de croissance	0,006	0,21	1,01	0,03	0,98
Longueur des élytres	-	-	-	-	-
Sexe (Mâle vs Femelle)	-	-	-	-	-

b – Calcul de différents paramètres de sénescence actuarielle

A partir des profils de mortalité âge-spécifique par modalité environnementale larvaire, nous avons déterminé plusieurs paramètres dont certains liés directement à la sénescence actuarielle. Dans un premier temps, nous avons adapté des modèles de Gompertz sur ces données. Le modèle de Gompertz comprend deux coefficients : a , lié à la mortalité intrinsèque globale donc pas directement lié à la sénescence, et b , le coefficient de sénescence qui fait accélérer exponentiellement l'augmentation de mortalité avec l'âge. Ces coefficients sont connus pour être anti-corrélés. En effet, une mortalité intrinsèque haute peut « masquer » la sénescence actuarielle puisque l'accélération sera moins forte. Ainsi, avec le modèle de Gompertz, pour avoir une meilleure idée de la sénescence actuarielle, il est possible de calculer le taux de sénescence, ω , à partir de a et b . Le coefficient b et le taux ω donnent une indication de la force de la sénescence, mais l'âge à partir duquel la sénescence actuarielle commence nous intéresse également, appelé ici seuil de sénescence (S). Pour cela, nous avons déterminé le point d'inflexion des modèles de Gompertz pour les mortalités âge-spécifiques des cinq conditions larvaires.

La modélisation des mortalité âge-spécifiques des groupes d'adultes ayant grandi dans différentes conditions de température et d'humidité a permis d'établir les paramètres a , correspondant à un indice de mortalité intrinsèque, et b , lié à la sénescence actuarielle. De

plus elle a permis de calculer leur taux de sénescence ω , ainsi que d'estimer S , le seuil de début de leur sénescence actuarielle (Tableau P1.12, Figures P1.11 et P1.12).

Pour les adultes ayant grandi à différentes températures, nous pouvons constater que la condition T24 présente un coefficient de sénescence actuarielle, b , significativement plus élevé que celui des conditions T20 et T28 (Figure P1.11), dont les intervalles de confiance à 95% se recourent (Tableau P1.12), indiquant une faible différence entre elles. Cependant, la condition T24 a un coefficient a , associé à la mortalité intrinsèque très proche de 0, contrairement aux conditions T20 et T28 qui restent également très proches. Par conséquent, le taux de sénescence de T24 est très faible (0,001), principalement en raison de sa valeur de mortalité intrinsèque. Les individus ayant grandi à 24°C sont aussi ceux avec le seuil de sénescence actuarielle le plus tardif au cours de leur vie adulte (Table P1.12 et Figure P1.11). En revanche, les insectes qui se sont développés à 28°C présentent un seuil S plus précoce par rapport à T20 et T24, indiquant une sénescence plus précoce. En termes de température, il semble donc y avoir un optimum pour la sénescence actuarielle avec un développement larvaire à 24°C. Nous ne pouvons donc pas ici lier négativement les taux de croissance avec les paramètres de sénescence actuarielle, puisque la survie commence plus précocement à la fois lorsque la croissance est forte et faible.

Tableau P1.12 : Paramètres des fonctions de Gompertz (a et b) adaptées sur les mortalités âge-spécifiques de adultes ayant grandi dans différentes conditions larvaires de température et d'humidité relative, taux de sénescence (ω) et seuil de début de la sénescence actuarielle (S), et leurs intervalles de confiance à 95% lorsqu'ils pouvaient être établis.

Condition larvaire	a	a IC95%	b	b IC95%	ω	S	S IC95%
T20	0,012	[-0,004 ; 0,028]	0,108	[0,06 ; 0,156]	0,036	22,5	[21,7 ; 23,3]
T24/H85	0	[0 ; 0]	0,442	[0,329 ; 0,555]	0,001	26,4	[26 ; 26,7]
T28	0,018	[-0,009 ; 0,046]	0,148	[0,069 ; 0,228]	0,052	16,3	[15,5 ; 17]
H55	0,003	[-0,001 ; 0,006]	0,189	[0,137 ; 0,24]	0,023	21,6	[20,9 ; 22,2]
H70	0,001	[-0,001 ; 0,002]	0,255	[0,162 ; 0,347]	0,013	22,3	[21,8 ; 22,9]

Qualitativement, on peut remarquer que les mortalités âge-spécifiques des adultes ayant grandi à 20°C semblent plus stables que celle des autres lors des 15 premières semaines de la phase adulte (Figure P1.11). La condition T28 présente une hausse brusque à partir d'environ 10 semaines et la condition T24 une augmentation temporaire à peu près au même âge post-émergence (Figure P1.11).

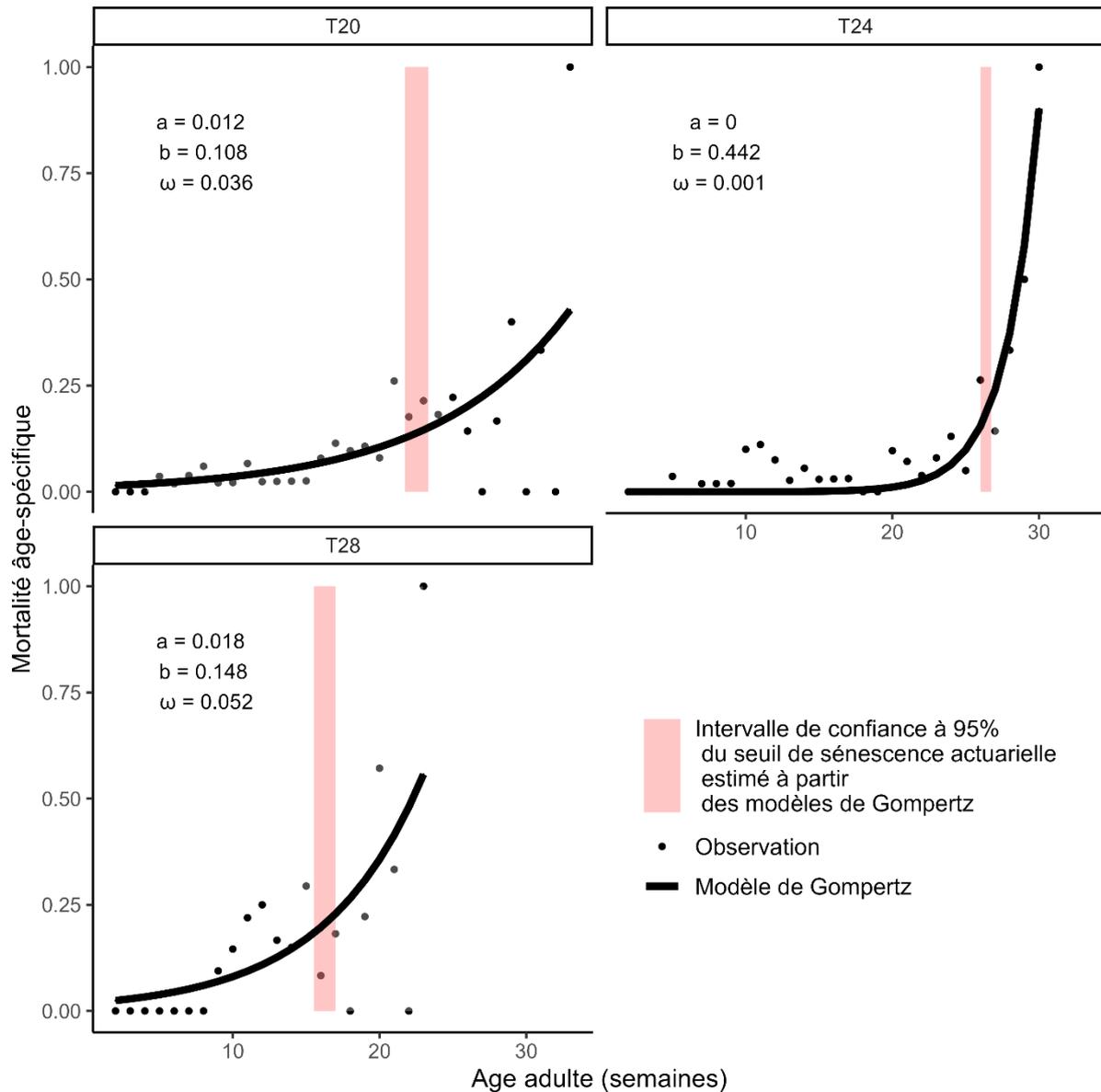


Figure 1.11 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalités âge-spécifiques des *T. molitor* ayant grandi à différentes températures larvaires. Les 10% d'individus les plus longévifs pour chaque groupe ont été retirés avant de calculer les mortalités âge-spécifiques. b est le coefficient de Gompertz associé à la sénescence actuarielle. ω est l'indice de sénescence actuarielle calculé à partir des deux paramètres du modèle de Gompertz. Le dernier paramètre de sénescence actuarielle est le seuil à partir duquel elle commence (en rouge) déterminé avec les prédictions du modèle de Gompertz.

Lorsqu'on s'intéresse aux insectes ayant grandi dans différentes conditions larvaires d'humidité, les différences sont moins marquées que pour les conditions de température. Néanmoins, la condition H85 (qui est aussi T24) reste celle qui présente le plus fort coefficient de sénescence actuarielle, b , mais la plus faible mortalité intrinsèque, a , le plus faible taux de sénescence, ω , et le seuil le plus tardif (Tableau P1.12 et Figure P1.12). Les chevauchements des intervalles de confiance indiquent que les conditions H55 et H70 sont très proches en

termes de valeurs de a , b et S . Enfin, le coefficient de sénescence de la condition H70 recoupe légèrement celui de H85 (Table P1.12). Lorsqu'on considère les taux de sénescence calculés à partir de a et b , on peut observer que plus l'humidité relative larvaire était élevée, moins la sénescence est rapide et marquée. Compte tenu du fait que le temps de développement larvaire diminuait et le taux de croissance augmentait lorsque l'humidité relative larvaire était plus élevée, ce résultat sur la sénescence actuarielle va à l'encontre des prédictions habituelles concernant le compromis entre le développement ou la croissance et la sénescence.

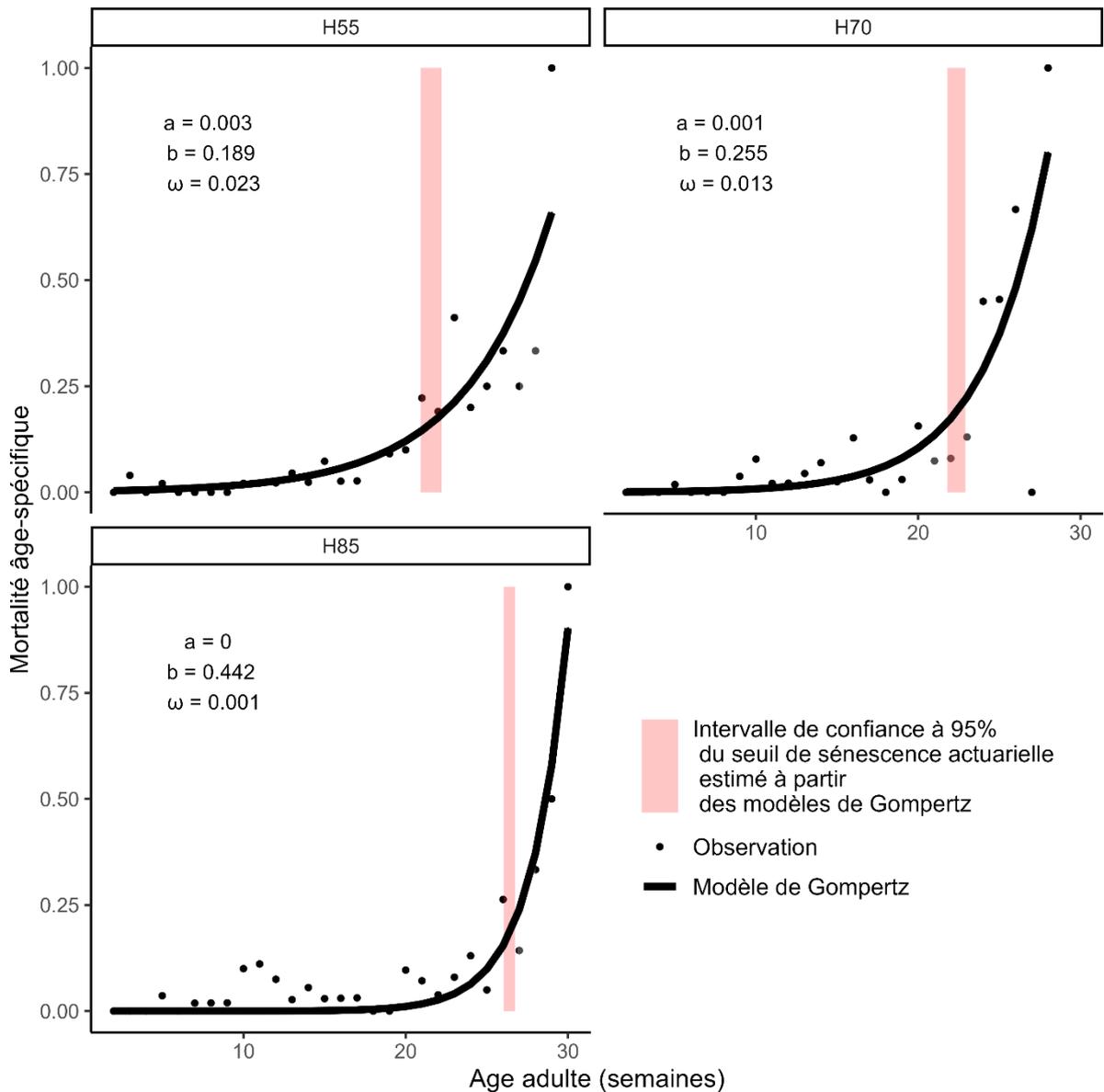


Figure P1.12 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalités âge-spécifiques des *T. molitor* ayant grandi à différentes humidités relatives larvaires. Les 10% d'individus les plus longévifs pour chaque groupe ont été retirés avant de calculer les mortalités âge-spécifiques. b est le coefficient de Gompertz associé à la sénescence actuarielle. ω est l'indice de sénescence actuarielle calculé à partir des deux paramètres du modèle de Gompertz. Le dernier paramètre de sénescence actuarielle est le seuil à partir duquel elle commence (en rouge) déterminé avec les prédictions du modèle de Gompertz.

Ici encore, si on s'intéresse à l'allure qualitative des mortalités âge-spécifiques, on peut remarquer que la trajectoire est beaucoup plus stable jusqu'à environ 15 semaines pour la condition d'humidité relative la plus faible (Figure P1.12).

D – Discussion

1 – Conditions environnementales larvaires, vitesse de développement et effets confondants

Les traits d'histoire de vie des individus ayant grandi dans les différentes conditions de température et d'humidité dépendent peu du sexe. Les valeurs et surtout les sens des comparaisons entre conditions sont très similaires selon que l'on considère seulement les femelles, comme je l'ai fait dans le premier chapitre, ou les deux sexes ensemble. Ainsi, les commentaires sur les modifications environnementales sont à peu de chose près les mêmes que dans le chapitre précédent. Les seules différences notables étant que la fécondité des mâles n'a pas été mesurée (ils se sont cependant reproduits selon les mêmes modalités que les femelles, permettant la comparaison d'autres traits de vie) et que les individus ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative présentaient des longévités similaires. Je discuterai donc les résultats de survie en regroupant les mâles et les femelles.

En ce qui concerne les différentes conditions d'humidité, les larves placées à 85% HR se sont développées plus rapidement et avec un taux de croissance plus élevé que celles placées à 70% HR, qui montraient des valeurs intermédiaires, et celles placées à 55% qui ont été les plus lentes. Ce résultat corrobore celui du premier chapitre, et était attendu, étant donné que l'humidité relative avait été spécifiquement choisie pour son impact sur la vitesse de développement et de croissance de *T. molitor* (Punzo et Mutchmor, 1980 ; Hardouin et Mahoux, 2003 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018). En outre, le taux de croissance plus élevé des *T. molitor* ayant grandi à 85% HR venait non seulement d'un temps de développement plus court, mais aussi d'une masse nymphale et d'une taille au stade adulte plus importantes. La masse étant un indicateur important de qualité individuelle chez les insectes (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019), un effet « *silver spoon* » a été suspecté (Grafen, 1988 ; Lindström, 1999 ; Monaghan, 2008), c'est-à-dire une meilleure qualité globale des individus ayant grandi dans un environnement favorable. Comme indice supplémentaire

de cet effet, les individus ayant grandi à 85% HR ne présentaient pas de contrepartie en termes de longévité malgré leurs taux de croissance élevés. Ce point constitue un biais potentiel dans l'étude du lien entre sénescence actuarielle et vitesse de croissance ou de développement, puisque les *T. molitor* les plus rapides sont aussi ceux qui ont probablement une qualité individuelle supérieure, leur permettant potentiellement de compenser l'éventuel coût d'un développement ou d'une croissance rapide. Leurs plus grandes réserves énergétiques en début de vie adulte pourraient notamment fausser le compromis d'allocation d'énergie, postulé par la théorie du soma jetable (Kirkwood et Rose, 1991).

Pour évaluer la généralité des résultats malgré cet effet confondant lié à la variation de l'humidité, une autre méthode de modification des vitesses de développement de *T. molitor* a été utilisée en variant la température environnementale larvaire. Le résultat le plus important dans ces conditions a été que, bien que les *T. molitor* soumis à différentes températures aient présenté des temps de développement différents (T20 ayant un temps plus long) et des taux de croissance différents (T20 ayant un taux plus faible), leurs masses moyennes nymphales étaient similaires. Ainsi, si l'on considère que la masse nymphale est un bon indicateur de la qualité individuelle, dans le cas de la variation de la température larvaire, contrairement à celui de la variation de l'humidité relative, aucune des conditions n'était associée à des individus de meilleure qualité. A priori, donc, aucune condition de température n'aurait généré d'individus ayant des réserves énergétiques plus importantes en début de phase adulte (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019), et les analyses ne devraient donc pas souffrir d'un effet confondant liée à des différences de qualité entre individus issus de différents environnements larvaires. Précisons cependant que les individus placés à 28°C durant leur phase larvaire avaient une longévité réduite par rapport aux deux autres conditions de température. La condition à 28°C pourrait donc présenter des contraintes cachées, comme une immunité plus importante (comme cela a été montré chez d'autres insectes, Adamo et Lovett, 2011 ; Murdock *et al.*, 2012 ; Muturi, Nyakeriga et Blackshear, 2012 ; Fedorka, Lee et Winterhalter, 2013), entrant en compromis avec le maintien de l'organisme et donc les performances tardives de l'organisme (documentées chez *T. molitor*, Krams *et al.*, 2013).

2 – Aucune diminution de longévité n'a été observée quand le développement est plus court ou la croissance plus élevée

En effectuant les analyses de survie à l'aide des modèles de Cox, aucun effet négatif du temps de développement ou du taux de croissance sur la longévité ou la survie adulte n'a été mis en évidence dans cette étude. Cette observation va à l'encontre des prédictions de la théorie du soma jetable. En effet, cette théorie, reposant sur les compromis d'allocation entre croissance et/ou reproduction précoce et maintien de l'organisme (Kirkwood et Rose, 1991), postule que la hausse de performance précoce que constitue un taux de croissance plus élevé devrait engendrer un coût tardif, notamment sur la longévité (Kirkwood et Holliday, 1979). Des preuves empiriques de cette relation ont déjà été documentées, que ce soit entre espèces (Gaillard *et al.*, 2016 ; Jones *et al.*, 2008 ; Stearns, 1983) avec un continuum *slow-fast* d'histoire de vie, mais aussi au sein de certaines espèces (Dmitriew, 2011). Stearns *et al.* (2000), par exemple, dans une expérience d'évolution expérimentale, ont pu constater une corrélation entre temps de développement et longévité adulte chez *D. melanogaster*. Plus proche de cette étude ici exposée, puisque passant par une modification de l'environnement larvaire, une corrélation négative entre le taux de croissance et la longévité a été observée chez *D. melanogaster* par Lints et Soliman (1977). De même, Janssens et Stoks (2018) ont montré, en modifiant le temps de développement de l'odonate *L. viridis* à travers l'environnement, que les individus qui se développaient rapidement avaient une longévité réduite. Cependant, l'absence d'une relation négative entre la vitesse de croissance et la sénescence actuarielle a également été documentée, en particulier chez d'autres insectes (Zwaan *et al.*, 1992, 1991, chez *D. melanogaster* élevées à différentes densités ou températures larvaires ; ou encore chez *Tribolium castaneum* venant de différentes populations (Lints et Soliman, 1977)).

En fait, les patrons de sénescence entre différentes fonctions ne sont pas forcément synchrones (Hayward *et al.*, 2015). Dans ce contexte, le coût d'un développement ou d'une croissance plus rapide pourrait se porter sur une autre fonction comme l'immunité ou la reproduction, comme cela a été observé dans le chapitre précédent de cette thèse. De plus, les *T. molitor* ont été élevés pendant une grande partie de leur cycle de vie en isolement, donc dans des conditions très peu représentatives de leur écologie réelle. Cet élevage sans compétition, où les risques d'infection ou de blessure par les congénères est nul et où les ressources n'étaient pas limitées, pourrait masquer le compromis recherché. En effet, il est

fréquent dans les études impliquant des compromis d'allocation énergétique, de placer les individus expérimentaux dans des conditions stressantes (Dmitriew, 2011). Ainsi, la vitesse de croissance pourrait s'exprimer aux dépens de la résistance à différents autres stress, tels que la restriction calorique une fois adulte, la dessiccation, l'exposition aux pathogènes, etc. Les individus grandissant le plus vite pourraient notamment présenter un métabolisme nécessitant plus d'apport pour se maintenir et donc moins résistant aux périodes de jeûne (Teuschl, Reim et Blanckenhorn, 2007, chez la mouche *Scathophaga stercoraria*).

Compte tenu du fait que seulement trois conditions étaient disponibles pour chaque type de modification environnementale larvaire, il n'a pas été possible de mener une analyse statistique sur les paramètres de mortalités âge-spécifiques. De manière qualitative, il a été observé qu'entre les différentes conditions de température, l'augmentation de la mortalité de la condition T20 est plus régulière, avec un coefficient b plus faible que celui des deux autres conditions. De plus, le début de l'accélération de la mortalité âge-spécifique pour la condition T20 est plus tardif que celui de la condition T28. Le taux de sénescence actuarielle ω est aussi plus faible pour la condition T20 que pour la condition T28. Étant donné que la condition T20 induit un développement larvaire plus lent chez les ténébrions et un taux de croissance larvaire plus faible que dans la condition T28, cela pourrait corroborer l'hypothèse d'un coût en termes de sénescence actuarielle pour une croissance rapide. Néanmoins, la condition T24, aussi rapide en développement et croissance que la condition T28, présente un patron de mortalités âge-spécifiques très différent de cette dernière, avec une accélération très forte de la mortalité, mais à un âge beaucoup plus tardif, aboutissant à un taux de sénescence actuarielle beaucoup plus faible. Il est à noter toutefois que les conditions T28 et T24 présentent des brusques hausses de mortalités à environ 10 semaines post-émergence, phénomène qui n'est pas observé pour la condition T20. La méthode de modélisation et d'identification du seuil de sénescence utilisée ici pourrait donc ne pas être optimale, car elle ne prend pas ce phénomène en compte. Toutefois, en se basant sur cette observation, l'étude plus détaillée du patron de sénescence pourrait apporter davantage d'informations sur le compromis recherché. Les observations de mortalité pour les différentes conditions d'humidité relative sont comparables à celles des variations de température. La condition H55, induit les vitesses de développement et de croissance les plus lentes, générant un coefficient b plus faible que pour les conditions H70 et H85 (cette dernière étant la même

condition que la condition T24). Cependant, elle présente un indice de sénescence ω plus élevé que les deux autres conditions et un seuil S à un âge plus faible que la condition H85. Comme observé dans les conditions de température T24 et T28, les conditions H85 et H70 présentent un premier pic de mortalité à environ 10 semaines post-émergence. Ce pic temporaire de mortalité précoce peut peut-être être une indication qu'une partie des individus étaient plus fragiles sous ces conditions d'élevage larvaire. Néanmoins, comme noté précédemment, la méthode de modélisation utilisée ici ne permet pas de prendre en compte ce pic temporaire de mortalité. Une autre approche avec, par exemple, un autre modèle de survie (Carey et Judge, 2000 ; Ricklefs et Scheuerlein, 2002), ou une autre méthode de détermination du seuil de début de l'accélération de l'augmentation de la mortalité, pourrait être testée pour déterminer si ce pic précoce de mortalité apporte une information complémentaire ou non.

Pour résumer, l'approche par la modélisation de la mortalité âge-spécifique, malgré ses limites (seules 3 conditions peuvent être comparées entre elles et non pas le continuum des temps de développement individuels), corrobore l'approche par l'analyse de Cox : il n'est pas montré de manière claire que les individus qui se sont développés avec un taux de croissance plus élevé (T24 et T28 si on compare les températures ; H85 si on compare les humidités relatives) présentent davantage de sénescence actuarielle.

Conclusion

La vitesse de développement et/ou de croissance ne semble pas être associée à la longévité ou la sénescence actuarielle chez des *T. molitor* après manipulation du développement par différentes conditions environnementales larvaires. Ce résultat va à l'encontre des prédictions de la théorie du soma jetable. Il pourrait être le résultat de l'isolement des animaux pendant une grande partie de leur vie, générant un environnement extrêmement protégé, qui pourrait empêcher l'observation d'un éventuel compromis entre la vitesse de développement et/ou de croissance et la longévité ou la sénescence actuarielle. Il est également possible que le coût éventuel du taux de croissance/temps de développement sur la survie ne soit pas perceptible alors qu'il l'est sur la reproduction (chapitre précédent), ainsi que sur certaines composantes de l'immunité (chapitre suivant).

V – Chapitre 3 : Growth and longevity modulation through larval environment mediate immunosenescence and immune strategy of *Tenebrio molitor*

Agathe Crosland^{1*}, Thierry Rigaud¹, Charlène Develay¹ and Yannick Moret¹

¹Biogéosciences (UMR-CNRS 6282) – Université de Bourgogne – Dijon – France

*Corresponding author: crosland.agathe@gmail.com

Abstract

Background The Disposable Soma Theory of aging suggests a trade-off between energy allocation for growth, reproduction and somatic maintenance, including immunity. While trade-offs between reproduction and immunity are well documented, those involving growth remain under-explored. Rapid growth might deplete resources, reducing investment in maintenance, potentially leading to earlier or faster senescence and a shorter lifespan. However, rapid growth could limit exposure to parasitism before reaching adulthood, decreasing immunity needs. The insect immunity's components (cellular, enzymatic, and antibacterial) vary in cost, effectiveness, and duration. Despite overall immunity decline (immunosenescence), its components seem to age differently. We hypothesize that investment in these immune components is adjusted based on the resource cost of growth, longevity, and the associated risk of parasitism.

Results We tested this hypothesis using the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* as our experimental subject. By manipulating the larval environment, including three different temperatures and three relative humidity levels, we achieved a wide range of growth durations and longevities. Our main focus was on the relationship between growth duration, longevity, and specific immune components: hemocyte count, phenoloxidase activity, and antibacterial activity. We measured these immune parameters both before and after exposing the individuals to a standard bacterial immune challenge, enabling us to assess immune responses. These measurements were taken in both young and older adult beetles. Upon altering growth duration and longevity by modifying larval temperature, we observed a more pronounced investment in cellular and antibacterial defenses among individuals with slow growth and extended lifespans. Intriguingly, slower-growing and long-lived beetles exhibited

reduced enzymatic activity. Similar results were found when manipulating larval growth duration and adult longevity through variations in relative humidity, with a particular focus on antibacterial activity.

Conclusion The impact of growth manipulation on immune senescence varies by the specific immune parameter under consideration. Yet, in slow-growing *T. molitor*, a clear decline in cellular and antibacterial immune responses with age was observed. This decline can be linked to their initially stronger immune response in early life. Furthermore, our study suggests an immune strategy favoring enhanced antibacterial activity among slow-growing and long-lived *T. molitor* individuals.

Keywords Aged immune response, invertebrate immunity, Disposable Soma Theory, constitutive and inducible immunity, mealworm beetle

A – Background

Aging, also known as senescence, is the gradual deterioration of physiological function and heightened susceptibility to age-related diseases and mortality. It is a phenomenon that impacts nearly all living organisms (Jones *et al.*, 2014). Various theories have been proposed to elucidate the proximate mechanisms of aging, such as cell senescence, telomere shortening, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction, among others (Beckman and Ames, 1998; Monaghan and Haussmann, 2006; Kujoth *et al.*, 2007). However, these theories do not provide a comprehensive explanation for the ultimate mechanism driving the evolution of aging and its diverse manifestations among different species and within populations (Jones *et al.*, 2014; Flatt and Partridge, 2018).

Evolutionary theories of aging are founded on the fundamental premise that the strength of natural selection declines as individuals age since they have already made successful contributions to their lifetime reproductive success (Medawar, 1952; Williams, 1957; Hamilton, 1966; Moorad, Promislow and Silvertown, 2019). Thus, the accumulation of mutations with late-life harmful effects (Medawar, 1952) and genes with negative pleiotropic effects—beneficial early in life but then deleterious later in life—might be selected for (Williams, 1957). The relationship between age-specific selection pressure and aging is often linked to the concept of trade-offs (Stearns, 1992), which is central to the disposable soma

theory of aging (Kirkwood, 1977), providing a physiological explanation for the aforementioned antagonistic pleiotropy theory (Lemaître *et al.*, 2015; Maklakov and Chapman, 2019). As individuals age, they face trade-offs in allocating limited resources between preserving their own bodies through somatic maintenance and investing in reproduction (Kirkwood, 1977). During early life, there is a strong selection for investing in rapid growth and reproduction to ensure the successful transmission of genes to the next generation. Consequently, this emphasis on allocating resources for early growth and reproduction may lead to a trade-off with later somatic protection, including immunity, ultimately resulting in a potentially shorter lifespan.

Immunity plays a crucial role in somatic protection. The immune system is a complex network of cells, tissues, and molecules that work together to defend the body against harmful pathogens or cancerous cells (Modlin and Doherty, 2003; Chapman and Chi, 2022). As individuals age, the immune system's efficiency may decline, resulting in immune senescence, a phenomenon marked by reduced responsiveness to infections and heightened vulnerability to age-related diseases. One potential cause of immune senescence is that, while highly beneficial, immunity is a resource-demanding function that can be subject to trade-offs with growth and reproduction. Numerous observational and experimental studies have examined the relationships between reproduction, adult longevity, and immunity, yielding contrasting results, depending on the species' reproductive tactics aimed at maximizing fitness (Kirkwood and Rose, 1991; Jones, Gaillard, Tuljapurkar, Alho, Armitage, Becker, Bize, Brommer, Charmantier, Charpentier, Clutton-Brock, Dobson, Festa-Bianchet, Gustafsson, Jensen, Jones, Lillandt, McCleery, Merilä, Neuhaus, Nicoll, Norris, Oli, Pemberton, Pietiäinen, Ringsby, Roulin, Saether, Setchell, Sheldon, Thompson, Weimerskirch, Jean Wickings, *et al.*, 2008; Jones *et al.*, 2014; Rodríguez-Muñoz *et al.*, 2019). Conversely, research specifically investigating the relationship between growth, adult longevity, and immunity is relatively scarce and primarily limited to observational studies (Peters *et al.*, 2019). Considering that rapid growth is believed to reduce somatic defenses, it is logical to anticipate that accelerated growth could affect adult immunity and lead to more pronounced immunosenescence. On the other hand, slow growth, coupled with a corresponding increase in adult longevity, is likely to elevate the susceptibility to extrinsic mortality due to prolonged exposure to pathogens. As a result, it is

expected that a relatively robust allocation to immune defenses will be maintained as adults age to enhance overall fitness.

Here we aim to study the relationships between growth, adult longevity and age-specific immunity using the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*, for which we have experimentally modified growth duration and adult longevity. *T. molitor* is a pest of stored grain products that recently attracted attention as a promising alternative protein source for food and feed purposes (Ribeiro, Abelho and Costa, 2018; van Huis, 2021). The larval development period of this species is highly variable, ranging from two to six months, and can be influenced by the quality and quantity of nutrition and environmental conditions, such as temperature and relative humidity. As variations in food intake may influence numerous physiological functions beyond simply affecting the trade-off between growth, longevity, and immunity (Cotter *et al.*, 2011), we decided to manipulate the larval environment. To achieve this, we exposed the larvae to three different temperature and three relative humidity conditions.

In *T. molitor*, like in many insects, the immune system relies on both constitutive and inducible innate mechanisms, which encompass cellular and humoral components (Vigneron *et al.*, 2019). Cellular immunity involves four types of hemocytes, namely granulocytes, plasmatocytes, prohemocytes and oenocytoids, responsible for functions such as phagocytosis, nodulation, and encapsulation of endogenous organisms (Söderhäll and Cerenius, 1998; Chung and Moon, 2004; Urbański, Adamski and Rosiński, 2018; Vigneron *et al.*, 2019; Vommaro, Kurtz and Giglio, 2021). The innate immune response also involves crucial humoral enzymatic defenses, including the activation of the prophenoloxidase (proPO) system (Cerenius, Lee and Söderhäll, 2008; Vigneron *et al.*, 2019). The enzymes of this system are synthesized constitutively and present in the haemolymph, oenocytoids and granulocytes (Vommaro, Kurtz and Giglio, 2021). The activation of the proPO into phenoloxidase (PO) enzyme is central to the inflammatory response (Söderhäll and Cerenius, 1998; Siva-Jothy, Moret and Rolff, 2005), leading to the production of cytotoxic compounds (Urabe *et al.*, 1994; Nappi *et al.*, 1995; Nappi and Ottaviani, 2000; Zhao *et al.*, 2011). These compounds can result in self-damage and ultimately reduce the individual's lifespan (Sadd and Siva-Jothy, 2006; Pursall and Rolff, 2011; Daukšte *et al.*, 2012; Krams *et al.*, 2013; Khan, Agashe and Rolff, 2017; Khan, Prakash and Agashe, 2019). Additionally, microbial infections trigger the synthesis and release of antimicrobial peptides into the hemolymph (Moon *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1996; Kim

et al., 1998; Roth *et al.*, 2009; Chae *et al.*, 2012). These peptides may persist for several days, serving either to target microbial pathogens evading immune cells and PO activity (Haine, Moret, *et al.*, 2008). They can also prepare the insect for subsequent pathogenic attacks through immune priming (Dhinaut, Chogne and Moret, 2018), a phenomenon observed in insects and other invertebrates where their immune system exhibits enhanced responses upon re-exposure to a previously encountered pathogen (Little and Kraaijeveld, 2004). Remarkably, antimicrobial peptides exhibit relative specificity and are efficient in eradicating microbes without harming the host's tissues (Hoffmann, Reichhart and Hetru, 1996). These different components of the *T. molitor* immune system were found to exhibit contrasting patterns of variation with age (Khan, Prakash and Agashe, 2016; Jehan *et al.*, 2022b), suggesting they might incur different age-specific costs. Cellular and enzymatic defenses tend to have lower upfront developmental costs but higher operating costs with a late-life impact that could shorten lifespan (Pursall and Rolff, 2011; Khan, Prakash and Agashe, 2016). On the other hand, the synthesis of antibacterial peptides appears to be high early in life, and once triggered, the cost of maintenance in later life may remain relatively modest (Jehan *et al.*, 2022b).

Therefore, we predict that insects exhibiting rapid growth and short adult longevity, as a result of experimental manipulation of their larval environment, should not heavily invest in costly immune components that primarily act over the long term, such as antibacterial activity and, to a lesser extent, hemocytes. Instead, they may prioritize the enzymatic component of immunity, such as the proPO system.

B – Methods

1 – Insect cultures and experimental design

Age-controlled experimental larvae were obtained from the progeny of insects in an outbred stock culture maintained at the university of Bourgogne (Dijon, France). A total of 150 females and 100 males, 14 to 21 days old post-eclosion, were kept together for 3 days in a plastic tank measuring L 56.5 × l 36.5 × h 15 cm. The tank was filled with bran flour and maintained under standard laboratory conditions, including $24 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ relative humidity and continuous darkness. When the larvae reached 4 weeks of age (measuring between 0.8 to 1.2 cm in size,

which allowed us to manipulate them without damage (preventing uncontrolled mortality before adulthood), 600 of them were randomly selected, isolated in grid boxes (boxes with 10 compartments each compartment: L 4.6 × l 3 × h 3 cm) and supplied *ad libitum* with a 9:1 mix of bran flour:fish food (JLB, Novo Malawi). The grid boxes were then haphazardly distributed among five temperature and relative humidity (RH) experimental conditions. Three of these experimental conditions varied in RH: 55 ± 5%, 70 ± 5%, and 85 ± 5%, while the temperature was kept constant at 24 ± 1 °C. The purpose of setting these environmental conditions was to affect larval development by experimentally varying the relative humidity while keeping the temperature constant. These RH values frame the optimal range of 60-75 % (as reviewed in (20)). Additionally, we aimed to modify larval development by varying the environmental temperature while keeping the relative humidity constant. For this purpose, we established two additional environmental conditions with temperature variations: 20.5 ± 1 °C and 28 ± 1 °C, while maintaining the relative humidity at 85 ± 5%, leading to three different temperature conditions (20.5 ± 1 °C, 24 ± 1 °C, and 28 ± 1 °C). These temperature values surrounded the optimal range estimated at 23-28°C (Ribeiro, Abelho and Costa, 2018). While all our environment manipulations can be stressful for animals at their extreme values, they were far from being deleterious (we observed no mortality during the larval growth). In all these environmental conditions, larvae were kept under continuous darkness.

Survival and development of the larvae were monitored twice a week until pupation. The growth duration was calculated from the date of egg-laying (determined as the median of the 3-day period during which the parents reproduced) to the date of pupation. After pupation, each individual was transferred in a new grid box compartment and maintained in a common garden at the standard laboratory condition (24 ± 1°C, 70 ± 5% RH, and continuous darkness). Pupae were observed twice a week until eclosion. Newly emerged adults were weighted using an OHAUS Discovery DV114C balance (d = 0.1mg) and their sex was determined. Adults were maintained under standard laboratory conditions and provided with the same food mixture as during their larval stage, along with a weekly supply of a small apple cube (approximately 4mm in size) as a source of sugar and water. The survival of adults was assessed weekly until the death of all individuals.

Adults were randomly assigned to age-specific measurements of their immunity either early in their life (around 16 ± 2 days post-eclosion, referred as young individuals) or later (around

45 ± 2 days post-eclosion referred as old individuals). For both age groups, we evaluated individual immunity by conducting hemolymph samplings before and 3 days after an immune challenge to test for the concentration of hemocytes, the antibacterial activity and the maintenance and use of the prophenoloxidase system. These measurements were taken under unchallenged conditions, corresponding to the basal levels of these immune parameters, and when the immune response was peaking, respectively (Haine, Moret, *et al.*, 2008; Haine, Pollitt, *et al.*, 2008). The immune challenge was performed by injecting of a 5µL suspension of the bacterium *Bacillus cereus* in Phosphate Buffer Saline (PBS 10mM, pH 7.4), which was inactivated by fixation (see method below), immediately after the first hemolymph sample. Individuals were weighted before the first hemolymph sampling.

2 – Bacterial cultures for the immune challenge

The immune challenge involved the use of inactivated *Bacillus cereus* obtained from the Institut Pasteur (CIP69.12). The methods for bacterial culture and immune challenge were similar to those described by (Jehan *et al.*, 2021). The bacteria were grown overnight in liquid broth medium (10g bacto-tryptone, 5g yeast extract, 10g NaCl in 1,000 mL of distilled water, pH 7) at 28°C. The bacteria were then killed in a 0.5% formaldehyde/PBS solution for 30 min, rinsed three time in PBS and their concentration adjusted to 10⁸cells/mL of PBS using a Neubauer improved cell counting chamber. The success of bacteria inactivation was confirmed by incubating of a sample of the inactivated bacterial solution on sterile Broth medium with 1% bacterial agar at 28°C for 24 hours. Aliquots of the inactivated bacterial solution were stored at -20°C until their use for the immune challenge. During the Immune challenge, 5µL of the inactivate bacterial solution was injected into the bacterial region using a sterile glass capillary that has been shaped into a fine point using an electrode puller (Narashige PC-10).

3 – Hemolymph collection and immune measures

Insects were chilled on ice, and a small incision was made at the membrane between the thorax and the abdomen to collect 6µL of hemolymph, both before and 3 days after the immune challenge.

Out of the collected 6 μ L of hemolymph, 3 μ L were mixed in 15 μ L of anticoagulant buffer (30 mM trisodium citrate, 26 mM citric acid, 15 mM sodium chloride, 20 mM EDTA, pH 4.6) (Lee *et al.*, 1999). Immediately, 10 μ L of this hemolymph-buffer mixture was used to estimate the concentrations of total hemocytes and different hemocyte types, using a Neubauer improved cell counter under a phase-contrast microscope (magnification \times 400). The hemocyte types considered were granulocytes, plasmatocytes, prohemocytes and oenocitoids, which are the major hemocyte types in *T. molitor*. The identification of these hemocyte types was based on the description made by (Urbański, Adamski and Rosiński, 2018). We did not measure the activity of the hemocytes, and these hemocyte counts will serve as a proxy for investment in the cellular response.

The remaining 3 μ L of hemolymph were mixed with 20 μ L PBS. These samples were reserved for measuring antibacterial activity and the enzymatic activity of the proPO system. For measuring antimicrobial activity only, a subsample of 5 μ L was transferred to a microcentrifuge tube coated with N-phenylthiourea to inhibit enzymatic activity. The remaining 18 μ L, standing in a tube without N-phenylthiourea, were used for proPO measurements. These samples were immediately flash-frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C.

Antibacterial activity was estimated using an inhibition zone assay, following the method described by Moret (2006) (Moret, 2006). Plates were prepared with *Arthrobacter globiformis* (Pasteur Institute CIP105365) by adding an overnight culture of the bacterium to Broth medium with 1% bacterial agar, adjusted to a concentration of 10⁶cells/mL. Each plate contained 10mL of the *A. globiformis*-seeded medium. During the solidification of the medium, 2mm diameter wells were created using a rake. Hemolymph samples stored at -80°C in N-phenylthiourea-coated microcentrifuge tubes were thawed on ice, and 2 μ L of each sample were placed in the experimental wells, and a positive control (2.5 mg/ml in absolute ethanol of Tetracycline: Sigma-Aldrich T3383) was included on each plate (Zanchi, Moret and Gillingham, 2019). Presence or absence of an inhibition zone and its diameter were measured after 48 hours of incubation at 28°C. Due to slight variations in inhibition zones among plates resulting from tetracycline addition, the diameter of the zone of inhibition for each sample was adjusted to consider this variation between plates. To achieve this, the Petri dish with the largest inhibition zone from the tetracycline-positive control was used as a reference. Subsequently, for each sample, the inhibition zone was multiplied by the ratio of the inhibition

zone caused by tetracycline in the reference Petri dish to that in the Petri dish where the sample was measured.

For each individual hemolymph sample, both the activity of naturally activated PO enzymes (PO activity) and the activity of proenzymes (proPO) in addition to PO (total-PO activity) were measured as a proxy of the proPO component of immunity, using a spectrophotometric assay (Zanchi, Moret and Gillingham, 2019). The PO activity was quantified without further activation, while the total-PO activity required the activation of proPO into PO using chymotrypsin. For this purpose, frozen hemolymph samples were thawed on ice and then centrifuged (3,500g, 5min at 4°C). Five μL of supernatant was added to a microplate well containing 20 μL of PBS, and either 140 μL of distilled water to measure PO activity only, or 140 μL of chymotrypsin solution (Sigma-Aldrich C7762, 0.07mg/mL of distilled water) to measure total-PO activity. Then, 20 μL of L-Dopa solution (Sigma-Aldrich D9628, a 4mg/mL of distilled water) was added to each well. The reaction was allowed to proceed at 30°C in a microplate reader (Molecular Devices, SpectraMax iD3) for 40 min. Readings were taken every 36s at 490nm and analyzed using the SoftMax Pro 7.1.2. software (Molecular Devices). Enzyme activity was measured as the slope (V_{max} value: change in absorbance unit per minute) of the reaction curve during the linear phase of the reaction and reported relative to the activity of 1 μL of pure hemolymph.

4 – Statistical analysis

Statistical analyzes were performed with R version 4.1.2 with Rstudio 2022.12.0 (R Core Team, 2022).

Firstly, we verified that the changes in larval environments had indeed an impact on the growth duration and the adult longevity. As mass is a good indicator of individual quality, we also characterized the effect on the mass reached by individuals during their pupal phase. For these three measures (Growth duration, Adult longevity and Pupal mass), the effect of larval environment and sex was evaluated. The larval environmental temperature conditions were categorized as T20 ($20.5 \pm 1^\circ\text{C}$ and $85 \pm 5\%$ RH), T24 ($24 \pm 1^\circ\text{C}$ and $85 \pm 5\%$ RH) and T28 ($28.5 \pm 1^\circ\text{C}$ and $85 \pm 5\%$ RH). The relative humidity conditions were designated as H55 ($55 \pm 5\%$ RH and $24 \pm 1^\circ\text{C}$), H70 ($70 \pm 5\%$ RH and $24 \pm 1^\circ\text{C}$) and H85 ($85 \pm 5\%$ RH and $24 \pm 1^\circ\text{C}$). It should be noted that conditions T24 and H85 refer to same group of insects. Generalized linear models

with a gamma distribution and a log link function (package `stats` (R Core Team, 2022)) was used to assess the variation in pupal mass in both environmental conditions, and variation in growth duration under the different larval temperatures and sex. A linear model was used to analyze the effects of the different relative humidities and sex on growth duration. In all cases, estimated marginal means were calculated with the `lsmeans` function (package `lsmeans` (Lenth *et al.*, 2022)) for variables with a significant effect. For survival analysis, we employed Cox models (`Surv` function to establish life table and `coxph`, survival package (Therneau *et al.*, 2022)) to estimate the overall effects of larval environment and sex, followed by a Wald test. Gains or losses in survival chance between different modalities of the two factors were evaluated using a z-test.

As in (Jehan *et al.*, 2022b), in order to obtain synthetic variables for the innate immune parameters of the individuals, Principal Component Analyses (PCA) were performed, using the PCA function from the `FactoMineR` package (Husson *et al.*, 2023). The variables included in the PCA were the concentrations of total hemocytes, granulocytes, plasmatocytes, prohemocytes, PO and total-PO activities, as well as the diameters of the inhibition zones from the antibacterial activity tests. For each of these variables, one measurement was taken before the immune challenge and one after. Prior to PCA, the variables were scaled. The resulting summarized scores of these immune parameters was then analyzed using linear mixed models (using the `lmer` function from the `lme4` package (Bates *et al.*, 2023)) with growth duration or adult longevity, immune challenge, age at which the immune challenge was conducted, and their two-way and three-way interactions as explanatory variables. Additionally, sex and body mass measured at the moment of the immune challenge were included in the models as main effects only. Larval environmental temperature and RH were included as a random effect depending on whether the growth duration and adult longevity were manipulated by the experimental modification of the larval temperature or RH. Since immune parameters were measured twice (before and after the immune challenge) for each individual insect, individual identity was also included as a random factor. Model selection on fixed effects was carried out by comparing the Akaike Information Criterion (AIC) of the exhaustive list of competing models¹⁸. All models with a $\Delta AIC \leq 2$ relative to the model with the minimum AIC were considered as the best models (Galipaud, Gillingham and Dechaume-

¹⁸ Les meilleurs modèles et leurs AIC sont disponibles en Annexe 1 – Tableaux A.18 à A.29.

Moncharmont, 2017). Lists of the best models for each analysis are available in the supplementary material. From among these models, we selected those that included the most possible interactions, as these interactions precisely tested our hypotheses. The significance of the effects in the selected model was assessed using Wald tests (Anova function, car package (Fox *et al.*, 2023)).

C – Results

1 – Growth duration, pupal mass and adult survival under different temperature and relative humidity conditions at the larval stage.

Larvae were maintained at three different temperatures until pupation (20.5 ± 1 °C, 24 ± 1 °C, and 28.5 ± 1 °C) with relative humidity (RH) of $85 \pm 5\%$, designated as T20, T24 and T28 respectively. Additionally, three relative humidity conditions were applied ($55 \pm 5\%$, $70 \pm 5\%$, and $85 \pm 5\%$ RH) at a constant temperature of 24 ± 1 °C, designated as H55, H70 and H85 respectively. Notably, the T24/H85 condition was common to both types of environmental modification. Subsequently, they were transferred in a common garden at 24 ± 1 °C and $70 \pm 5\%$ RH.

Both variations in temperature and humidity of larval rearing had a significant impact on the duration of larval growth (Temperature: LR = 229.5; d.f. = 2; $p < 0.001$, Relative Humidity: F = 238.2; d.f. = 2; $p < 0.001$; Figure P1.13 A and B). Among larvae reared at different temperatures, those raised at 28.5°C exhibited the fastest growth (Figure P1.13 A), reaching the pupal stage approximately 8 days ahead of the larvae grown at 24°C and 36 days earlier than the larvae grown at 20.5°C (Figure P1.13 A). The latter had the longest larval growth duration. Among larvae grown at different relative humidities (Figure P1.13 B), those grown at 85 % RH showed faster growth than those grown at 70% RH, while the growth of larvae reared at 55% RH was the slowest among the groups.

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

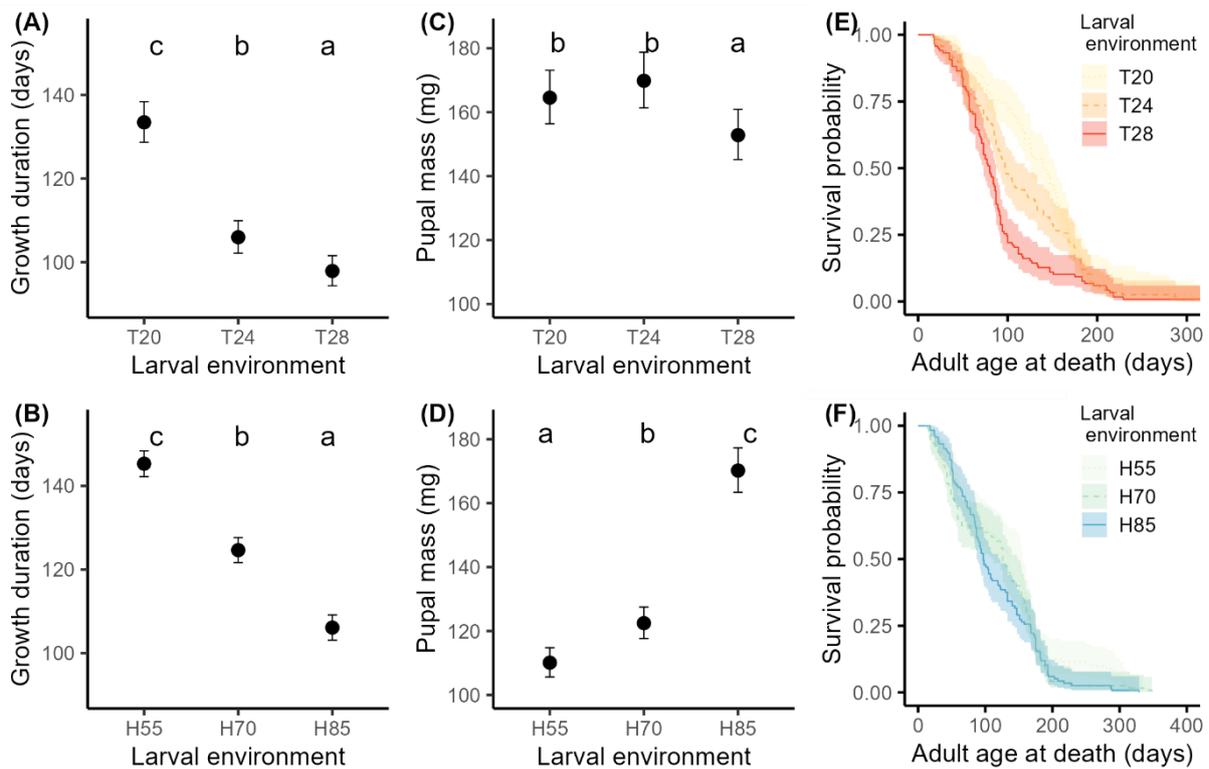


Figure P1.13. Life history traits after exposure to different larval conditions. (A), (B) Growth duration (estimated marginal means) as a function of larval temperature (RH constant at 85%) (A) and larval relative humidity (temperature constant at 24°C) conditions (B), corrected for the effect of sex. (C), (D) Pupal mass (estimated marginal means) as a function of larval temperature (C) and larval relative humidity (D). (E), (F) adult age specific survival as a function of larval temperature (E) and larval relative humidity conditions (F). Samples sizes are: T20: 55 females and 63 males; T28: 74 females and 45 males; T24/H85: 51 females and 66 males; H70: 68 females and 52 males; H55: 57 females and 56 males. Error bars and colorful outlines surrounding survival curves are 95% confidence intervals. Different letters represent values significantly different ($p \leq 0.05$) after Bonferroni-corrected pairwise comparisons of estimated marginal means.

Among the groups of insects exposed to different temperature conditions at the larval stage, females grew significantly faster than males (LR = 5.18; d.f. = 1; $P = 0.023$). The same trend was found among insects exposed to different relative humidity conditions, although the difference was marginal ($F = 3.26$; d.f. = 1; $P = 0.072$).

Both temperature and relative humidity during the larval stage had a significant impact on pupal mass (LR = 12.6; d.f. = 2; $P = 0.002$ and LR = 362.0; d.f. = 2; $P < 0.001$ respectively) (Figure P1.15 C and D). Among the larvae reared at different temperatures, those grown at 20.5 or 24°C exhibited similar pupal masses. In contrast, the pupae grown at these two temperatures were heavier than those grown at 28.5°C (Figure P1.13 C), which also reached this stage faster (Figure 1.13 A). Concerning larvae reared at different relative humidities, the pattern of pupal mass was opposite to that growth duration (Figure P1.13 B and D). Pupae from larvae grown at 55%RH were lighter, while those from larvae grown at 85% RH were heavier compared to the two other humidity conditions. Sex did not have a significant effect on pupal mass under

the different temperature or relative humidity conditions (LR = 3.76; d.f. = 1; P = 0.052 and LR = 1.01; d.f. = 1; P = 0.31 respectively).

The temperature variations at the larval stage had a significant impact on adult survival, with higher temperatures lowering adult survival (Figure 1.13 E and Table 1.13 A). On the other hand, the relative humidity of the larval stage had no significant effect on adult survival (Figure 1.13 F and Table 1.13 B). While males and females from different larval temperatures survived similarly (Table 1.13 A), adult males survived longer than females when exposed to varied larval relative humidity conditions (Table 1.13 B).

Table P1.13: Cox regression model analyzing adult longevity as a function of larval temperature and sex (A), and larval relative humidity and sex (B). β is the regression coefficient of the overall survival function for variables, while s.e. is the standard error of the regression coefficient. Odds indicates the odds ratio of survival for variable ($\exp(\beta)$) relative to the control factor as the reference category. The same model was calculated with T24 and T28 as reference categories to obtain all relative odds ratios. For Sex, females were the reference category. Wald is the statistical test for the variable, and p indicates the significant level for Wald statistic. The sample size for (A) are as follows: T20 - 55 females and 63 males; T24 - 51 females and 66 males; T28 - 74 females and 44 males. The sample size for (B) are as follows: H85 - 51 females and 66 males; H70 - 68 females and 52 males; H55 - 57 females and 56 males.

(A)							
Variables	β	s.e.	Odds	Wald	χ^2	d.f.	p
Temperature					25.5	2	< 0.001
T20 vs T24	-0.28	0.13	0.75	-2.15			0.03
T28 vs T24	0.39	0.14	1.48	2.92			0.004
T20 vs T28	-0.68	0.13	0.51	-5.04			< 0.001
Male vs Female	-0.11	0.11	0.89	-1.031	1.06	1	0.303
(B)							
Variables	β	s.e.	Odds	Wald	Chisq	d.f.	p
Relative humidity					3.73	2	0.16
H55 vs H70	-0.13	0.13	0.88	-0.97			0.33
H85 vs H70	0.13	0.13	1.14	0.99			0.33
H55 vs H85	-0.26	0.13	0.77	-1.93			0.053
Male vs Female	-0.28	0.11	0.76	-2.55	6.52	1	0.011

2 – Principal component analyses to summarize immune measures

Since only a few oenocytoids were observed in the hemolymph (out of 1004 individual samples counted, only 376 contained at least one oenocytoid, and among these, a mean of two oenocytoids was counted), oenocytoid count could not be analyzed statistically. They were nevertheless included in the total concentration of hemocytes.

We conducted Principal Component Analyses (PCAs) on the measured immune parameters (granulocytes, plasmacytes, total hemocytes, PO, total-PO, and antibacterial activity) in order to condense them into composite variables. The distribution of the immune parameters

across the first three axes are the same than reported in (Jehan *et al.*, 2022b). These first three components of the analyses accounted for 82.2% and 82.1% of the variability for temperature modification and relative humidity modification, respectively (Table 1.14). The first component mainly represents cellular defenses, including the total concentration of hemocytes and the count of the different hemocyte types (Table 1.14). The second component predominantly represented proPO defenses as evidenced by the strong loadings of PO activity and total-PO activity (Table 1.14). Lastly, the third component primarily corresponded to antibacterial activity (Table 1.14).

Table P1.14: Principal Component Analysis (PCA) loadings of variables and variability of principal component (PC) for larval temperature and relative humidity. Only individuals with complete immune measurements were included (T20: n = 88; T28: n = 85; T24/H85; n = 97; H55: n = 92; H70: n = 86). The variable loadings associated with each axis are indicated in bold.

	Temperature			Relative humidity		
	PC1 (42.7%)	PC2 (24.1%)	PC3 (15.5%)	PC1 (42.4%)	PC2 (24.3%)	PC3 (15.4%)
Total hemocytes	0.55	0.14	-0.16	0.56	0.10	-0.16
Granulocytes	0.47	0.09	-0.36	0.46	0.08	-0.41
Plasmatocytes	0.49	0.15	0.04	0.51	0.09	0.07
Prohemocytes	0.38	0.14	0.25	0.37	0.17	0.22
PO activity	-0.21	0.67	-0.06	-0.16	0.69	-0.03
Total-PO activity	-0.19	0.67	-0.12	-0.17	0.67	-0.17
Antibacterial activity	0.13	0.15	0.87	0.15	0.16	0.85

The three components of *T. molitor* immunity (cellular defenses, proPO defenses, and antibacterial activity) were estimated using the coordinates derived from the three primary components obtained from the aforementioned PCA. For each type of immunity and specific larval environmental modification, mixed models were formulated, incorporating random effects for larval environmental condition and individuals, given that two measurements were taken per insect (before and after the immune challenge). In addition, these random effects were integrated into the most comprehensive model, which included the following variables and their interactions: growth duration or adult longevity (both in days), immune challenge (before vs. after the immune challenge), and the insect's age when hemolymph samples and immune challenges were made (referred to as 'Age': young vs. old). In order to account for individual variation in quality, pupal mass was also included in all models, without interacting with other variables. A comprehensive model selection process, based on AIC criteria was, carried out for each model. Additional details regarding the best model selections can be found in the Additional file 1.

3 – Influence of growth duration and longevity on cellular defenses (PC1) through larval temperature modification

Cellular defense scores (PC1) were generally stronger in heavier adult individuals, and showed, as anticipated, an increase after the immune challenge ($\beta = 0.012 \pm 0.005$, Table P1.15A, B). Of greater significance, these cellular defense scores were significantly influenced by the triple interaction involving growth duration, age at measurement and immune challenge (Table P1.15A). In particular, young insects exhibited an overall elevation of cellular defenses alongside larval growth duration, with this effect amplified after the immune challenge in individuals with extended growth durations (Figure P1.14A). Conversely, such effects were absent in older individuals (Figure P1.14B). Thus, insects with longer larval stages demonstrated an inclination to allocate increased resources towards cellular defenses during their early adulthood compared to their older counterparts.

In contrast to growth duration, adult longevity did not influence cellular defense scores, either as a main effect or in interaction with age at measurement and the immune challenge (Table P1.15B).

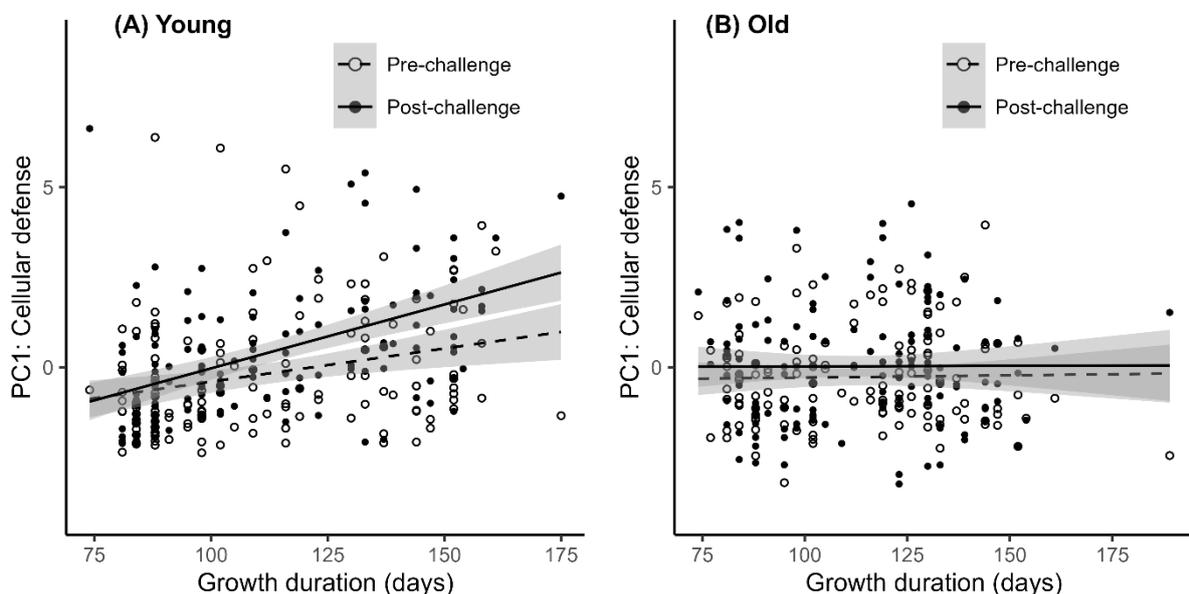


Figure P1.14: Cellular defense scores (PC1 of the PCA) in insects reared under different larval temperatures. Immune scores are plotted against growth duration, before and after an immune challenge in (A) young adult insects (15 ± 2 days post eclosion) and (B) old adult insects (45 ± 2 days post eclosion). The lines represent linear regression according to growth duration and 95% confidence intervals are depicted in grey.

4 – Influence of growth duration and longevity on proPO defenses (PC2) through larval temperature modification

As anticipated, the immune challenge led to an increase in proPO defense scores (Table P1.15A, B). In contrast to cellular defense scores, heavier insects exhibited lower levels of proPO defense scores, although this was only statistically significant in the model assessing the influence of adult longevity ($\beta = -0.004 \pm 0.003$, Table P1.15B).

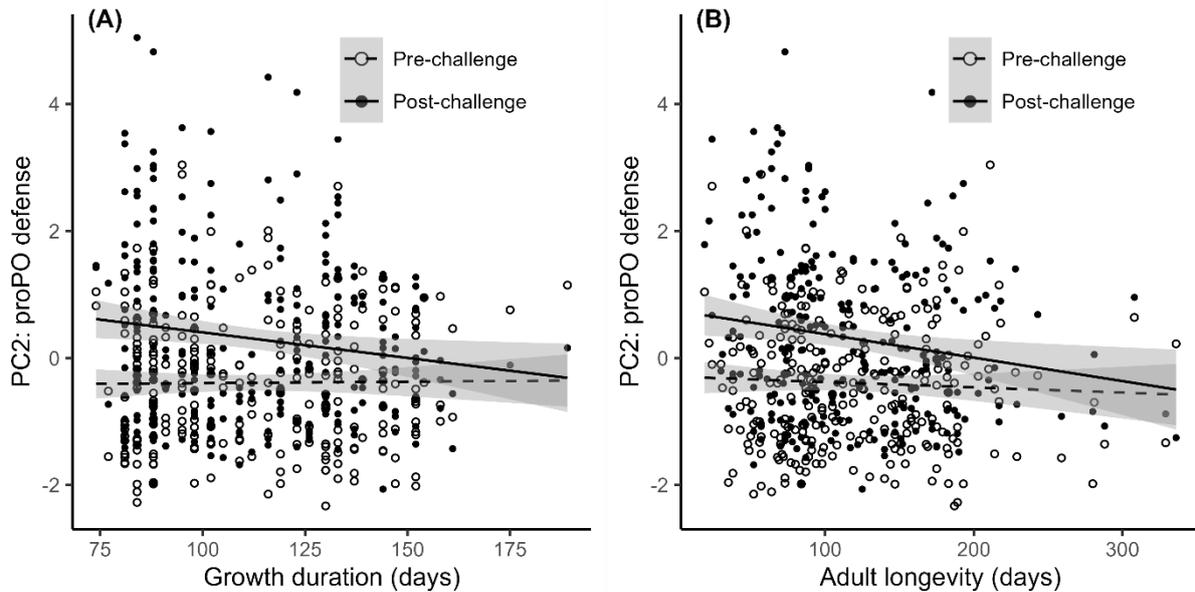


Figure P1.15: Enzymatic defense scores (PC2 of the PCA) in insects reared under different larval temperatures. Immune scores are plotted against (A) Growth duration and (B) Adult longevity, before and after an immune challenge. Lines represent linear regressions and 95% confidence intervals are depicted in grey.

The magnitude of the enzymatic response to the immune challenge was significantly influenced by growth duration (Table P1.15A). Specifically, individuals with faster growth exhibited a stronger response (i.e. higher levels of immunity after challenge) compared to those with slower growth (Figure P1.15A). A similar trend was observed in relation to adult longevity, where short-live insects demonstrated a stronger enzymatic response compared to longer-live ones (Figure P1.15B), even though the interaction between adult longevity and immune challenge was only marginally significant (Table 4B). However, the overall significant negative correlation observed between levels of proPO defense scores and adult longevity (Table P1.15B, Figure P1.15B) indicates that long-lived insects allocated fewer resources to proPO defenses compared to short-lived ones.

5 – Influence of growth duration and longevity on antibacterial defense (PC3) through larval temperature modification

The antibacterial defense scores exhibited a substantial overall increase in response to the immune challenge (Table P1.15A, B; Figure P1.16). However, the significant interaction between the immune challenge and age at measurement indicates that the magnitude of this antibacterial response is weaker in aged beetles compared to young ones (Table P1.15A, B; Figure P1.16). This age-related shift in the antibacterial response was significantly modulated by growth duration, as indicated by the significant triple interaction (Table P1.15A). Specifically, among young insects, long growth durations were associated with a stronger antibacterial response to the immune challenge compared to individuals with shorter growth duration (Figure P1.16A). On the contrary, among older insects, longer growth durations were associated with a lower antibacterial response to the immune challenge compared to those with shorter growth durations (Figure P1.16B).

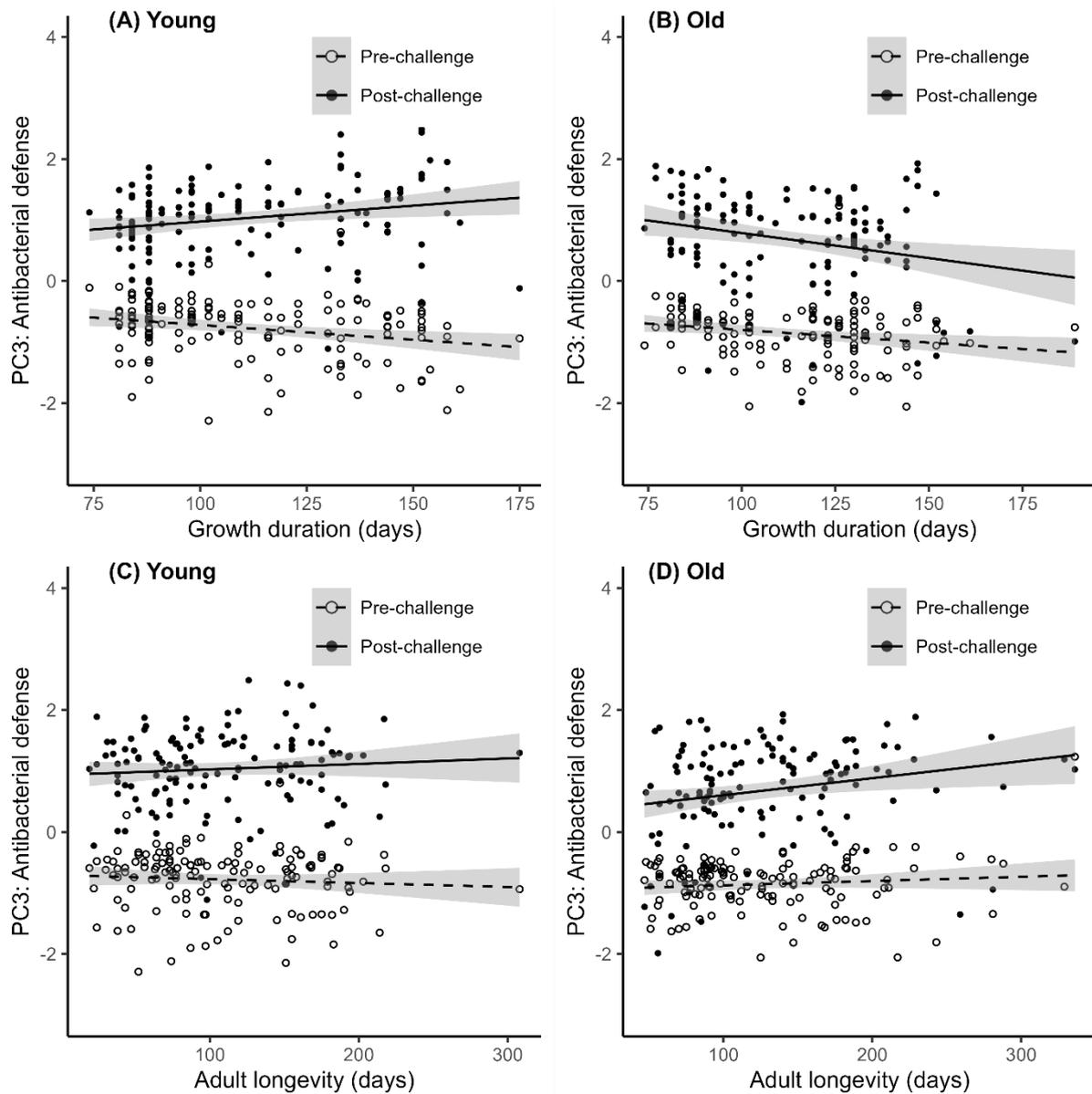


Figure P1.16: Antibacterial defense scores (PC3 of the PCA) in insects reared under different larval temperatures. Immune scores are plotted against (A), (B) growth duration and (C), (D) adult longevity, before and after an immune challenge occurring when the insects were young ((A), (C)) and when the insects were old ((B), (D)). The lines represent linear regressions, and 95% confidence intervals are depicted in grey.

While adult longevity exhibited an overall positive correlation with antibacterial scores ($\beta = 0.002 \pm 0.001$, Table P1.15B, Figure P1.16C, D), its triple interaction with the immune challenge and age at measurement was only marginally significant (Table P1.15B). Specifically, adult longevity showed no significant effect on the antibacterial response to the immune challenge when the response was measured when insects were young (Figure P1.16C), whereas long-lived individuals tended to show a stronger antibacterial response when measured in older insects (Figure P1.16D).

Partie 1 : Environnement larvaire, développement, croissance et sénescence

Table P1.15: Generalized linear mixed models describing the effects of variables on the three defense scores of adults *T. molitor* that experiences larval grown at different temperature (T20, T24 and T28). The presented models are the most comprehensive ones minimizing the AIC criteria, including either (A) Growth duration or (B) Adult longevity, along with Immune challenge (before vs. after the immune challenge), Age at measurement (hemolymph sampled in young vs. old insects), their two-way and three-way interactions. Body mass of the insects measured before the immune challenge and sex were also included as main effect only. The larval temperature conditions and individual identity were included as random effects. The sample sizes for each category are as follows: T20 - 40 individuals measured young and 48 old; T24/H85 - 48 individuals measured young and 37 old; T28 - 50 individuals measured young and 47 old.

(A) Models selected with growth duration as variable in the complete model

Variables	PC1			PC2			PC3		
	Wald χ^2	d.f.	p	Wald χ^2	d.f.	P	Wald χ^2	d.f.	p
Growth	0.016	1	0.9	0.57	1	0.45	6.76	1	0.009
Challenge	16.1	1	< 0.001	53.1	1	< 0.001	1161	1	< 0.001
Age	1.48	1	0.22	-	-	-	14.9	1	< 0.001
Mass	8.8	1	0.003	2.88	1	0.09	-	-	-
Sex	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth*Challenge	3.08	1	0.08	5.29	1	0.02	-	-	-
Growth*Age	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Challenge*Age	-	-	-	-	-	-	8.99	1	0.003
Growth*Challenge*Age	20.4	2	< 0.001	-	-	-	22.6	3	< 0.001

(B) Models selected with adult longevity as variable in the complete model

Variables	PC1			PC2			PC3		
	Wald χ^2	d.f.	p	Wald χ^2	d.f.	P	Wald χ^2	d.f.	p
Longevity	1.73	1	0.19	4.55	1	0.03	5.01	1	0.03
Challenge	16.2	1	< 0.001	55.1	1	< 0.001	1116	1	< 0.001
Age	1.88	1	0.17	-	-	-	17.0	1	< 0.001
Mass	20.2	1	< 0.001	4.31	1	0.04	-	-	-
Sex	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Longevity*Challenge	-	-	-	3.13	1	0.077	-	-	-
Longevity*Age	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Challenge*Age	1.14	1	0.29	-	-	-	8.62	1	0.003
Longevity*Challenge*Age	-	-	-	-	-	-	6.76	3	0.08

6 – Influence of growth duration and longevity on cellular defenses (PC1) through larval relative humidity modification

Although growth duration and adult longevity were kept in the models, neither had a significant effect on cellular defense scores when the larval environment was modified through changes in the relative humidity (Table P1.16). As expected, the immune challenge had a positive effect on the cellular response, resulting in an average increase of $\beta = 0.6 \pm 0.13$ of the cellular defense score after the immune challenge. Additionally, consistent with the results obtained with the temperature changes during the larval stage, insects with higher body mass exhibited higher cellular defense scores compared to lighter ones ($\beta = 0.008 \pm 0.004$, Table P1.16). In contrast to prior results, the sex of the individuals influenced the levels

of cellular defense scores. Males exhibited slightly higher cellular defense scores than females, as shown by the marginally significant effect in the model involving growth duration and the significant effect in the model involving adult longevity (Table P1.16). According to the latter model, males had an increase of $\beta = 0.34 \pm 0.17$ in cellular defense scores.

7 – Influence of growth duration and longevity on proPO defenses (PC2) through larval relative humidity modification

Neither growth duration nor adult longevity had a significant effect on proPO defense scores, although growth duration was retained in the model (Table P1.16). The immune challenge significantly increased the enzymatic response. This effect was only slightly influenced by the age of the measurement (Table P1.16A, Figure P1.17). Specifically, the enzymatic response tended to be slightly weaker in older insects (Figure P1.17).

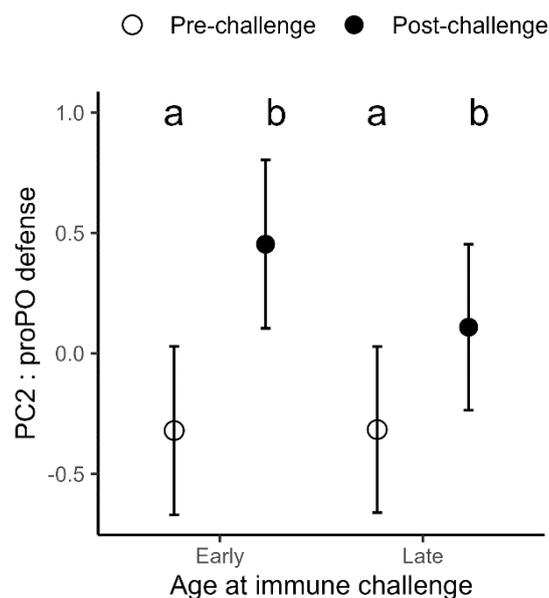


Figure P1.17: Enzymatic defense scores (PC2 of the PCA) in insects reared under different larval relative humidities. Estimated marginal means are given before (circles) and after (triangles) an immune challenge, occurring either when young or old. Error bars are the 95% confidence intervals. Different letters represent values significantly different ($p \leq 0.05$) after Bonferroni-corrected pairwise comparisons of estimated marginal means.

8 – Influence of growth duration and longevity on antibacterial defense (PC3) through larval relative humidity modification

As previously observed for other immune components, the immune challenge resulted in an increase in the levels of antibacterial defense scores (Figure P1.18). However, this effect of

the immune challenge was modulated by both the age of the immune challenge and the growth duration (Table P1.16A, Figure P1.18A and B), along with the adult longevity (Table P1.16B, Figure P1.18C and D). These two variables had distinct effects. Specifically, while the antibacterial response appeared to be constant along growth duration among young insects (Figure P1.18A), it displayed a slightly increase for individuals with longer growth durations in later life (Figure P1.18B).

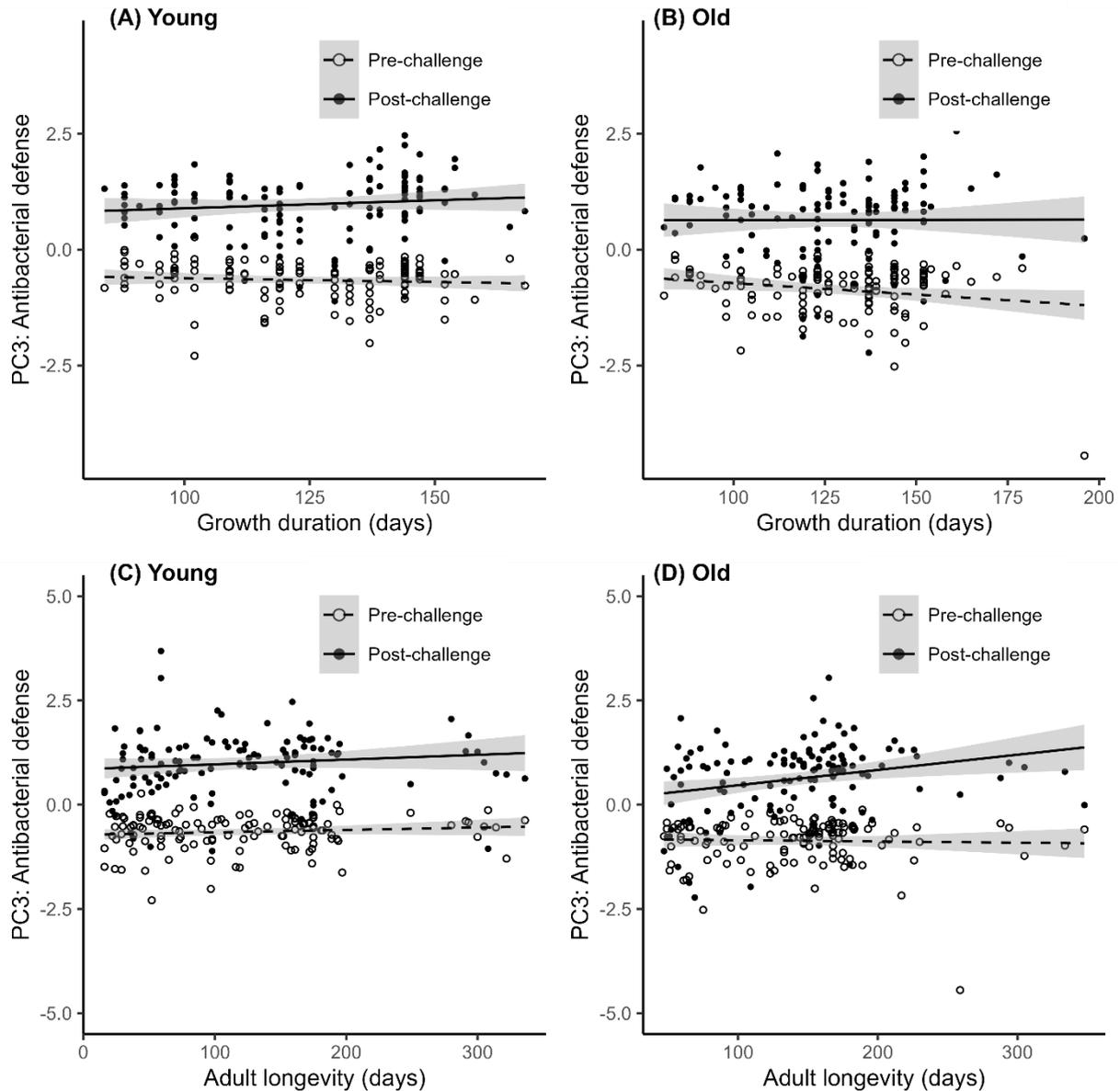


Figure P1.18: Antibacterial defense scores (PC3 of the PCA) in insects reared under different larval relative humidities. Immune scores are plotted against (A), (B) growth duration and (C), (D) adult longevity, before and after an immune challenge occurring when the insects were young ((A), (C)) and when the insects were old ((B), (D)). The lines represent linear regressions and 95% confidence intervals are depicted in grey.

The impact of adult longevity was similar, but more pronounced: when measured in older individuals, the antibacterial response was significantly higher in long-lived adults compared

to short-lived ones (Figure P1.18D); however, this distinction was not apparent in measurements taken from young insects (Figure P1.18C). Similar to the results from the larval temperature modification, it seems that this pattern was primarily driven by a weaker response in older short-lived individuals, rather than a substantial amplification of the response in older long-lived adults in contrast to young adults (Figure P1.18C and D).

Table P1.16: Generalized linear mixed models describing the effects of variables on the three defense scores of adults *T. molitor* that experiences larval grown at relative humidity (H55, H70 and H85). The presented models are the most comprehensive ones minimizing the AIC criteria, including either (A) Growth duration or (B) Adult longevity, along with Immune challenge (before vs. after the immune challenge), Age at measurement (hemolymph sampled in young vs. old insects), their two-way and three-way interactions. Body mass of the insects measured before the immune challenge and sex were also included as main effect only. The larval humidity conditions and individual identity were included as random effects. The sample sizes for each category are as follows: H85 - 48 individuals measured young and 37 older; H70 - 35 individuals measured young and 41 older; H55 - 44 individuals measured young and 47 older (one outlier for growth duration was removed for all analysis).

(A) Models selected with growth duration as variable in the complete model

Variables	PC1			PC2			PC3		
	Wald χ^2	d.f.	P	Wald χ^2	d.f.	P	Wald χ^2	d.f.	P
Growth	0.16	1	0.69	2.89	1	0.09	1.17	1	0.28
Challenge	21.5	1	< 0.001	42.9	1	< 0.001	781	1	< 0.001
Age	-	-	-	1.72	1	0.19	19.3	1	< 0.001
Mass	6.78	1	0.009	-	-	-	-	-	-
Sex	3.58	1	0.058	-	-	-	-	-	-
Growth*Challenge	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth*Age	0.19	1	0.66	-	-	-	1.51	1	0.22
Challenge*Age	-	-	-	3.62	1	0.06	-	-	-
Growth*Challenge*Age	-	-	-	-	-	-	6.24	2	0.04

(B) Models selected with adult longevity as variable in the complete model

Variables	PC1			PC2			PC3		
	Wald χ^2	d.f.	P	Wald χ^2	d.f.	P	Wald χ^2	d.f.	P
Longevity	0.81	1	0.37	-	-	-	6.18	1	0.013
Challenge	22.8	1	< 0.001	44.8	1	< 0.001	749	1	< 0.001
Age	-	-	-	1.16	1	0.28	23.8	1	< 0.001
Mass	6.31	1	0.012	-	-	-	-	-	-
Sex	4.20	1	0.04	-	-	-	-	-	-
Longevity*Challenge	2.35	1	0.13	-	-	-	-	-	-
Longevity*Age	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Challenge*Age	-	-	-	3.72	1	0.054	1.89	1	0.17
Longevity*Challenge*Age	-	-	-	-	-	-	9.33	3	0.025

D – Discussion

According to the Disposable Soma Theory of Aging (Kirkwood, 1977), growth and reproduction are assumed resource-demanding functions, leading to trade-offs with somatic maintenance and defense, including the immune system, resulting in a gradual decline of all organismal

functions with age. As a result, rapid growth is anticipated to compromise the expression of immune defenses during adulthood, contributing to reduced adult survival. Conversely, slow growth, coupled with an associated increase in adult longevity, is expected to raise the risk of extrinsic mortality due to prolonged exposure to pathogens. Consequently, it is expected that a relatively strong investment in immune defenses will be maintained as adults age to optimize fitness.

Our study investigated how the changes in growth duration and adult longevity, resulting from manipulations of environmental conditions during larval stages, influence adult age-specific investment in innate immune defenses of *T. molitor*. Consistent with previous work (Punzo and Mutchmor, 1980; Prokkola *et al.*, 2013; Crosland *et al.*, 2022), we successfully manipulated both growth duration and adult longevity of our insects by experimentally exposing them to different temperature or relative humidity conditions during the larval stage. However, the magnitude of the effects of larval temperature and larval RH on growth duration and adult longevity was slightly different. Variation in larval temperature significantly impacted both growth duration and adult longevity, whereas variation in larval RH affected growth duration without impacting adult longevity significantly. Among the larvae reared under different relative humidity conditions, those maintained at 85%RH during their larval stage were the fastest to reach adulthood. Given that they were also heavier than the individuals from other relative humidity conditions, we proposed that the absence of evidence for the expected trade-off between growth and longevity might be attributed to a 'silver spoon effect' (Grafen, 1988; Lindström, 1999; Monaghan, 2008). This effect arises when individuals experience favorable conditions during the initial stages of their life, potentially enabling them to evade the trade-off that typically accompanies rapid growth, namely, a shorter adult life and reduced investment in immunity. A similar phenomenon was observed in a previous study, although in that case, the silver-spoon effect did not mask the heightened reproductive senescence associated with the acceleration in growth rate (Crosland *et al.*, 2022). Overall, growth duration increased when larval temperature or larval RH decreased, and adult longevity increased when larval temperature decreased. By manipulating the larval environment, we generated substantial range of variations in growth duration and adult longevity. This variation provided us with the opportunity to evaluate their respective effects on the different components of adult immunity in response to a bacterial immune challenge

as individuals aged. Of course, since some environmental conditions used here are deviating from the optimal conditions for *T. molitor*, we acknowledge that extreme values may represent stress for this insect, even if it was moderate since no mortality was observed during the larval exposure to the different conditions used here. Nevertheless, these conditions might affect the immune system directly. It is known, for example, that temperature variation directly affects the immune system functioning in various invertebrates (Adamo and Lovett, 2011; Labaude *et al.*, 2017). However, these effects are often complex and not directly scaled with environmental conditions (Lazzaro and Little, 2008; Murdock *et al.*, 2012). Here, the different environmental conditions are taken into account in our analyses and the effect of growth duration or adult longevity are found, even after controlling for the confounding effects of these direct environmental influences.

1 – Cellular defenses were modulated by growth duration and age

We found measurable variation in cellular defenses according to age, the immune challenge, and growth duration. As observed in previous studies, including different insect species (Park, Kim and Stanley, 2011; Pigeault *et al.*, 2015; Jehan *et al.*, 2022b), cellular defenses were observed to decline with age, and in response to the immune challenge, insects circulated more immune cells in the hemocoel (Korner and Schmid-Hempel, 2004; Li *et al.*, 2019; Jehan *et al.*, 2021). However, this heightened response was observed solely among young adult insects and was positively linked to their growth duration. Specifically, only young adults that experienced a longer growth period were capable of sustaining a high baseline concentration of immune cells and, in addition, exhibited a significant increase in their circulation following the immune challenge.

No relationship between cellular defenses and adult longevity was found in our study, suggesting that it was growth rather than adult longevity that mainly drove the variation in this immune component. Furthermore, high investment in cellular defenses was strongly associated with high adult body mass, an indicator of body condition (Zanchi, Moret and Gillingham, 2019), suggesting that cellular defenses are potentially costly and requires good body condition to be maintained. A possible interpretation of these results is that cellular defenses required significant physiological resources and time for its development and the payoff of investing in this arm of the immune system is likely in the long term.

2 – proPO defenses were modulated by growth duration but not by ageing

ProPO defenses was responsive to the immune challenge, leading to an increase in its activity, but was uncorrelated with age. This latter result is consistent with previous findings showing no significant change or only a weak increase in the activity of the proPO system with age in adult *T. molitor* and *Tribolium castaneum* (Khan, Prakash and Agashe, 2016; Jehan *et al.*, 2020, 2022b). The proPO system is an important constitutive immune component in insects, and its activity requires fine-tuned regulation because PO activity produces potentially toxic reactive nitrogen and oxygen species, which can harm the host (Nappi and Ottaviani, 2000; Sadd and Siva-Jothy, 2006). Consistently, in *T. molitor*, the stimulation of the PO response was found to reduce longevity in adult beetles (Pursall and Rolff, 2011; Khan, Prakash and Agashe, 2016; Khan, Agashe and Rolff, 2017), and the strength of the response has been found to be negatively correlated with the remaining lifespan (Krams *et al.*, 2013). Consequently, investment in this enzymatic component of the innate immune system is expected to pay off in the short term only and may therefore benefit primarily fast-growing insects with short adult lifespans. Consistent with this, we found that the magnitude of the enzymatic immune response to the immune challenge was modulated by growth duration and marginally by adult longevity. Specifically, the enzymatic immune response was stronger among adults that grew faster and had shorter lifespans compared to adult insects that grew slower and had longer lifespans.

It is also noteworthy that, in contrast to cellular defenses, heavy adult insects, which were presumably in good condition and found previously to exhibit longer life span (Crosland *et al.*, 2022), tended to exhibit lower enzymatic immune scores than lighter ones. It therefore appears that investment between constitutive cellular and proPO defenses might be strategic to maximize fitness depending of growth duration and adult life span.

3 – Inducible antibacterial defense is driven by strong interactions between ageing and growth duration or adult longevity

Antibacterial defense was strongly increased by the immune challenge, as expected for this inducible component of the insect immune system (Hoffmann, Reichhart and Hetru, 1996). However, the magnitude of the response decreased with age, possibly indicative of immune senescence, where older individuals are less able to respond to the immune challenge than

younger ones. It is noticeable that the contrary was found in *Drosophila melanogaster* (Zerofsky *et al.*, 2005) and *T. castaneum* (Khan, Prakash and Agashe, 2016) with increased antibacterial activity in older individuals.

The antimicrobial immune response involves the inducible production of antimicrobial peptides, and in contrast to the constitutive enzymatic immune response, it is relatively specific in its action and does not induce self-harm. However, this specificity comes at the cost of slow responsiveness (Siva-Jothy, Moret and Rolff, 2005). In *T. molitor* larvae, this immune pathway plays a key role in the phenomenon of immune priming, wherein antibacterial activity can be sustained for several weeks after a primary bacterial challenge, offering protection against subsequent infections (Dhinaut, Chogne and Moret, 2018). Since immune priming is anticipated to provide long-term benefits, investment in antibacterial defense in *T. molitor* is of paramount importance, particularly among slow growers and long-lived individuals who are likely to encounter prolonged exposure to repeated pathogen attacks.

We observed that both growth duration and adult longevity influenced the age-specific expression of the antibacterial immune response during the adult stage of *T. molitor*. However, the effects of growth duration and adult longevity were somewhat divergent. Overall, growth duration showed a negative correlation with antibacterial defense. Nevertheless, long growth duration tended to enhance the antibacterial immune response among young insects, while it was associated with a weaker response among older insects. On the other hand, adult longevity exhibited a positive correlation with antibacterial defense and improved the antibacterial immune response among older individuals. Therefore, it appears that, unlike cellular defenses, antibacterial defense was primarily influenced by adult longevity rather than growth duration, where the latter seemed to incur some costs in old adults that grew slowly.

The positive correlation between adult longevity and the antibacterial response supports our hypothesis, suggesting that maintaining this relatively low-cost immunity might prevent reinfections in long-lived individuals. However, the unexpected finding was the relatively negative impact of larval growth duration. Specifically, despite the fact that young slow-growing insects could develop robust antibacterial immune responses, they demonstrated weaker antibacterial responses as they aged. This trend of variability was evident among both insects raised under fluctuating temperatures and those reared in varying relative humidity

conditions, although the impact was more subtle in the latter group. This accelerated decline of the antibacterial immune pathway in slow-growing insects could not be attributed to a potential size-related constraint on their ability to generate antibacterial responses in later stages of life, as it seems to occur among birds (van der Most *et al.*, 2011). On one hand, as mentioned earlier, slow-growing insects seemed to display the highest responsiveness early in their lives. On the other hand, while extended growth periods resulted in larger adults for insects reared under varying larval temperatures, the same prolonged growth duration was linked to smaller adults among insects raised under fluctuating relative humidity levels. A plausible explanation is that the impact of the growth cost on the antibacterial immune response is likely not linear. While rapid growth might incur costs on immunity, it is also possible that an excessively extended growth duration could be constraining, leading to an accelerated senescence of the inducible antibacterial response. Nevertheless, it should be noted that such a negative impact of an excessively extended growth duration on the antibacterial response late in life might have limited effects on fitness for two main reasons. First, as observed earlier, prolonged growth is associated with robust immune responses early in life when the residual reproductive value (i.e., the potential for future reproduction) of the insects is still high. Second, in the later stages of life, the residual reproductive value of the insects diminishes, and the necessity for a strong capacity to respond to pathogen attacks becomes less critical for individual fitness. This might, therefore, provide an explanation for why accelerated senescence among slow-growing insects could be selected.

We did not analyze the effect of reproduction here, which can trade-off with somatic maintenance or growth rate, nor did we explore the impact of the changes evidenced here on offspring quality and/or on trans-generational immune priming (Schulz, Stewart and Tate, 2022). In *T. molitor*, complex patterns of relationships have been identified between changes in immune defenses with age and female reproduction. While cellular and proPO defenses showed some patterns of ageing and did not tradeoff with reproduction, antibacterial immune response were less affected by age, but highly connected to female fecundity (Khan, Prakash and Agashe, 2016). Comparing the influence of growth on these trade-off patterns would therefore be an exciting and promising prospect.

Conclusions

We have demonstrated that the pattern immune senescence following growth and longevity manipulation depends of the specific immune parameter under consideration. Limited evidence of aging was observed for enzymatic activity, whereas slow-growing *T. molitor* exhibited an age-related decline in their cellular and antibacterial immune responses. This entailed a robust immune response early in life, transitioning to a weaker or non-existent response in older individuals. This trend was primarily observed in the context of antibacterial activity, an immune component that displayed a negative correlation with growth duration (although a strong response was evident in young adults of slow-growing individuals) but a positive correlation with adult longevity (with a more pronounced response in long-lived older adults compared to younger ones). This implies that an immune strategy favoring antibacterial activity in slow-growing and long-lived individuals has been favored in *T. molitor*. However, the manifestation of senescence in this immune component was linked specifically to slow larval growth. The maintenance of elevated levels of antibacterial response in older adults with the highest probability of survival underscores the significance of this immune response in mitigating the risk of reinfection associated with an extended lifespan.

VI – Conclusion de la Partie 1

En plaçant des larves de *T. molitor* dans différentes conditions de température et d'humidité relative, j'ai pu obtenir une plus forte variabilité de temps de développement et de taux de croissance que celui que j'aurais obtenu dans une seule condition environnementale. Manipuler l'environnement n'est cependant pas sans biais. Les variations d'humidité relative, en particulier, ont probablement induit des différences de qualité individuelle moyenne. En effet, l'accessibilité à l'eau est connue pour influencer fortement la masse et la taille en fin de croissance de *T. molitor* (Punzo, 1975; Ribeiro, Abelho and Costa, 2018), connues pour être des indicateurs de la qualité individuelle et des prédicteurs de des performances au stade adulte (Arrese and Soulages, 2010; Zanchi, Moret and Gillingham, 2019).

La grande gamme de valeurs de temps de développement et de taux de croissance m'a permis de tester l'une des hypothèses des théories de la sénescence (Medawar, 1952; Williams, 1957; Kirkwood and Austad, 2000), qui passerait d'après Kirkwood (1977) par un compromis d'allocation d'énergie et de ressources entre performances précoces et le maintien de l'organisme. En effet, parmi les « performances précoces » on trouve notamment la vitesse de développement ou de croissance. L'hypothèse avec laquelle j'ai travaillé était qu'un investissement plus important dans le développement ou la croissance devrait être accompagné d'une sénescence accrue. Cette sénescence peut toucher n'importe quelle fonction de l'organisme et ne pas être synchrone entre ces fonctions (Hayward *et al.*, 2015). Je me suis donc concentrée sur trois fonctions essentielles de la fitness que sont la reproduction (sénescence reproductive), la survie (sénescence actuarielle) et l'immunité (sénescence immunitaire). Dans le cas de cette dernière fonction, je me suis intéressée à différentes composantes immunitaires, pouvant ne pas être liées de la même manière au développement et donc ne pas vieillir de façon similaire¹⁹.

Les résultats en termes de sénescence reproductive ont été très similaires entre les femelles ayant grandi dans différentes conditions d'humidité ou celles ayant grandi dans différentes conditions de température. La sénescence reproductive, définie *stricto sensu* comme la baisse

¹⁹ Il est notamment possible qu'un temps de développement plus long offre davantage d'occasion de croiser des pathogènes et nécessite donc un investissement plus grand dans la fonction immunitaire. De manière similaire, les individus vivant les plus vieux pourraient avoir une immunité plus forte ou différente en terme d'investissement dans certains mécanismes immunitaires.

des performances reproductives avec l'âge, était plus forte chez les femelles avec le taux de croissance le plus élevé, allant dans le sens de notre hypothèse. Le temps de développement n'avait quant à lui pas d'influence. Ceci pourrait laisser penser que c'est la constitution de réserves énergétiques lors du développement qui est en compromis avec les performances reproductives tardives, plus que la vitesse de constitution de l'organisme adulte capable de se reproduire. La sénescence reproductive était également moins forte chez les femelles vivant le plus longtemps à l'âge adulte, laissant penser que la sénescence reproductive et la sénescence actuarielle pourraient aller dans le même sens. Cette relation va dans le sens la stratégie de traits d'histoire de vie proposée pour les femelles *T. molitor* (Jehan *et al.*, 2021, 2022a) : une stratégie de reproduction restreinte où la fitness des femelles est liée à une grande longévité associée à une reproduction modérée et relativement constante en fin de vie (tout au moins une fois passé le pic précoce de reproduction). Cependant, une analyse de la fécondité précoce et tardive dans la vie permet de constater que plus les femelles ont un taux de croissance élevé, plus leur production précoce d'œufs est forte, alors que leur production tardive reste la même que celle des femelles ayant grandi plus lentement. La plus forte sénescence des femelles à croissance rapide vient donc plus d'une augmentation des performances reproductives précoces que d'une diminution des performances reproductives tardives. Ces observations sont cependant limitées aux mesures de fécondité réalisées à seulement deux âges. Mesurer la reproduction plus fréquemment et plus longtemps permettrait de trancher entre deux hypothèses : il n'existe pas de coût reproductif tardif d'une croissance rapide ou que ce coût soit plus tardif que ce que qui est anticipé. Cependant, l'âge qui a été choisi pour la mesure de la reproduction tardive des femelles n'était le fruit du hasard. La mesure de la fertilité a été envisagée avant le début de la sénescence actuarielle (Jehan *et al.*, 2020), afin d'éviter un phénomène de disparition sélective. Néanmoins, en se basant sur les résultats de Jehan *et al.* (2020), la fertilité des femelles baisse relativement peu entre les semaines 6 et 11 post-émergence, même chez celles dont l'intensité de la reproduction avait été manipulée – par le biais de sex-ratios déséquilibrés – pour accélérer leur sénescence reproductive. Cependant, comme observé dans le deuxième chapitre traitant de la sénescence actuarielle, la mortalité augmente de manière limitée avant la dixième semaine post-émergence. Cela offre la possibilité d'une mesure plus tardive, vers 70 jours post-émergence, sans biais lié à la disparition sélective.

Dans le cas de l'étude de la sénescence actuarielle, les résultats étaient là encore similaires entre individus ayant grandi dans différentes conditions de température et ceux ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative. Ni le temps de développement ni le taux de croissance n'ont eu d'influence sur la longévité ou la probabilité de survie des adultes de *T. molitor*. Cette observation va à l'encontre de notre hypothèse. Elle pourrait cependant s'expliquer par l'environnement extrêmement protégé dans lequel les individus expérimentaux étaient maintenus. En effet, ils étaient isolés, les protégeant de la compétition, des risques de blessure et de la transmission de pathogènes. De plus, ils étaient nourris *ad libitum*. Ces conditions auraient pu masquer un éventuel compromis, qui pourrait être visible dans des conditions plus stressantes ou plus proches de l'écologie réelle de l'espèce.

Le temps de développement des ténébrions n'a pas la même influence sur les différentes composantes de l'immunité (défenses cellulaires, système proPO/PO et activité antibactérienne) et surtout sur leur réaction à un challenge immunitaire en fonction de l'âge. Les niveaux de base (avant challenge immunitaire) des défenses cellulaires, ainsi que leur amplitude de réponse à un challenge standard montrent un phénomène de sénescence. L'activité du système proPO/PO ne semble pas montrer de sénescence, confirmant les observations de Jehan et al. (2022). En revanche, l'investissement de *T. molitor* dans la réponse du système proPO/PO à un challenge immunitaire dépend du temps de développement. Les individus qui se développaient rapidement avaient une réponse de la composante proPO/PO plus forte. Une tendance inverse était observée en fonction de la longévité : les individus les plus longévifs ont une immunité reposant moins sur cette composante immunitaire. Le système proPO étant au cœur de la réponse inflammatoire chez les insectes et étant capables de générer des dommages par auto-réactivité sur les propres cellules et organes de l'hôte, avec parfois une réduction significative de la longévité (Sadd and Siva-Jothy, 2006 ; Pursall and Rolff, 2011 ; Khan, Agashe and Rolff, 2017 ; Vigneron *et al.*, 2019), il semble logique que cette composante immunitaire soit moins favorisée chez les animaux les plus longévifs. Enfin, l'activité antibactérienne était ici soumise à la sénescence, ce qui n'avait pas été observé précédemment. En outre, les individus ayant mis le plus de temps à grandir ont investi davantage précocement dans cette composante de l'immunité, alors que chez les adultes plus âgés, la réponse semble plus stable en fonction du temps de développement. L'activité antibactérienne en réponse au challenge immunitaire des insectes âgés était

positivement liée à leur longévité adulte. Cet élément, ajouté à l'observation inverse sur le système proPO/PO (quel que soit l'âge dans ce cas), laisse penser qu'il existe une « stratégie immunitaire » en fonction du temps de développement et de la longévité potentielle. Il est cependant à noter que, mis à part les résultats pour l'activité antibactérienne qui sont très similaires entre types de modification de l'environnement larvaire, ces résultats ont été obtenus sur les individus placés dans différentes conditions de température. Les différents temps de développement induits par des variations d'humidité n'ont mené qu'à peu de résultats significatifs pour la composante cellulaire et le système proPO/PO. Ainsi, il ne peut être exclu un effet direct de l'environnement larvaire sur l'immunité, autre que l'effet sur le temps de développement et la longévité.

Comme le préconise Dmitriew (2011), c'est la multiplicité des approches qui permet de tester l'effet de la vitesse de développement ou de croissance sur la sénescence. Ainsi, dans la seconde partie de cette thèse, la vitesse de développement et de croissance n'a pas été modifiée expérimentalement, mais dépend de la génétique de plusieurs lignées consanguines de *T. molitor*.

Partie 2 :

Sénescentes reproductive et actuarielle de *Tenebrio molitor* issus de lignées consanguines présentant des niveaux différents d'investissements dans la croissance larvaire

I – Introduction

Les théories de la sénescence prévoient que ce phénomène quasi-universel de déclin de l'organisme avec l'âge (Rose, 1991) repose sur une opposition entre phases précoce et tardive de la vie, au détriment de cette dernière, conséquence d'une diminution de la force de la sélection naturelle avec l'âge (Haldane, 1941 ; Medawar, 1952 ; Hamilton, 1966). Si cette opposition entre performances précoces et tardives est rarement remise en question, les mécanismes qui mènent à la sénescence font l'objet de diverses théories.

Comme mentionné précédemment, la théorie du soma jetable, proposée par Kirkwood (Kirkwood, 1977; Kirkwood et Holliday, 1979; Kirkwood et Rose, 1991; Kirkwood et Austad, 2000), postule l'existence de compromis évolutifs entre différentes fonctions, en particulier entre la reproduction et le maintien de l'organisme. Ce dernier phénomène regroupe tous les processus permettant de préserver l'intégrité de l'organisme, de le maintenir en état de fonctionnement et ultimement d'éviter sa mort, en résumé, d'éviter la sénescence. La sénescence touche toutes les fonctions de l'organisme, mais les plus étudiées, car directement liées à la fitness, sont la reproduction (sénescence reproductrice) et la survie (sénescence actuarielle). Cependant, une autre fonction liée à la reproduction peut être mise en opposition avec le maintien de l'organisme sur le long terme : la croissance et le développement. Ces deux traits d'histoire de vie sont intimement liés puisque la croissance a généralement lieu pendant le développement, et le développement nécessite la croissance. Le développement est le temps permettant d'atteindre un état de l'organisme à partir duquel la reproduction est possible (van der Have et de Jong, 1996). La croissance correspond quant à elle à une prise de masse par unité de temps (van der Have et de Jong, 1996).

Pour une espèce donnée, le taux de croissance est très variable en fonction des individus ou des populations. De plus, le fait qu'elle est rarement maximale laisse à penser qu'une croissance très forte induit des coûts (Metcalf et Monaghan, 2003 ; Dmitriew, 2011). On peut ainsi penser qu'il existe un compromis, d'une part, entre l'investissement dans la croissance, se traduisant en particulier par une croissance plus ou moins courte, permettant ainsi à l'individu d'atteindre la première reproduction plus ou moins rapidement, et d'autre part, la sénescence (Kirkwood et Holliday, 1979 ; Metcalfe et Monaghan, 2001, 2003).

Dans la première partie de cette thèse, j'ai exposé les résultats d'une expérience visant à tester, via des modifications de l'environnement larvaire de *T. molitor*, si un temps de développement plus court et/ou un taux de croissance plus élevé étaient accompagnés d'une sénescence accrue et/ou précoce. Cette seconde partie vise à tester la même hypothèse mais en utilisant cette fois-ci des lignées consanguines de *T. molitor*, présentant ainsi une variabilité de temps de développement et de taux de croissance d'origine génétique. L'utilisation de lignées consanguines offre également l'occasion de tester l'existence de relations génétiques entre la vitesse de développement/croissance et la sénescence. La sénescence sera abordée ici sous deux aspects²⁰ : la sénescence reproductive et la sénescence actuarielle (via la longévité des adultes et la diminution des probabilités de survie avec l'âge).

Afin de tester si un développement plus court et une croissance plus rapide s'accompagnent d'une sénescence accrue, et surtout la base génétique de cette relation, 17 lignées consanguines de *Tenebrio molitor*, initiées bien avant le début de cette thèse, ont été utilisées. Des données non publiées suggéraient que ces différentes lignées présentaient un temps de développement larvaire variable. Un protocole a été mis en place pour mettre en relation ces données de croissance larvaire avec des mesures de fécondité des adultes (tôt dans leur vie et plus tard, pour estimer leur sénescence reproductive), et le moment de leur mort, pour estimer la sénescence actuarielle. Dans un premier temps, les lignées ont été caractérisées sur de multiples traits de vie liés à la qualité des individus, afin de tester chaque lignée et ne pas prendre en compte celles qui auraient souffert d'une trop forte dépression de consanguinité, phénomène qui pourrait fausser notre analyse. Une analyse en composante principale sur des variables de développement et de qualité de l'individu a permis d'écarter 3 lignées des analyses qui ont suivi. Une analyse a également permis de confirmer que les différentes lignées présentaient effectivement des temps de développement variés. À partir des 14 lignées restantes, la relation entre développement et sénescence reproductive a été étudiée, soit en considérant les valeurs individuelles et donc en prenant en compte les différentes lignées comme une source de variabilité de temps de développement et de taux

²⁰ La sénescence immunitaire des lignées consanguines de *T. molitor* en relation avec leur vitesse de développement ne sera pas présentée dans le corps de cette thèse, mais a fait l'objet d'une expérience et d'un stage de Master 2 que j'ai encadré. Comme il ne s'agit pas directement de mon travail, le rapport est disponible en Annexe 5.

de croissance, soit en considérant les moyennes par lignée afin de s'intéresser à la génétique des traits observés. Des corrélations génétiques ont ainsi pu être obtenues.

II – Matériel et méthodes

A – Origine des insectes et préparation de l'expérience

Les insectes utilisés dans cette étude proviennent de 17 lignées consanguines, elles-mêmes issues à l'origine d'un élevage maintenu en panmixie à l'université de Dijon (Bourgogne). Les lignées consanguines ont été créées début 2012 en effectuant 6 à 7 générations de croisements consanguins. Initialement, 40 géniteurs (20 mâles et 20 femelles) ont été pris au hasard dans le stock panmictique, créant 20 lignées. A chaque génération au sein de chaque lignée, un couple frère-sœur a ensuite été tiré au hasard parmi les descendants du couple précédent pour créer la génération suivante. Le nombre de génération est indiqué dans le code de chaque lignée : par exemple la lignée 1.7 est la lignée 1, qui a été maintenue en consanguinité pendant 7 générations, la lignée 17.6 la lignée 17 maintenue pendant 6 générations, etc. Cinq lignées se sont éteintes, sans doute souffrant d'une trop forte dépression de consanguinité. Les lignées 3 et 5 ont été dupliquées à la génération 6, créant dans chaque cas une génération consanguine de plus (créant les lignées 3.6 et 3.7, et 5.6 et 5.7). Après la génération 6 ou 7, chaque lignée a été maintenue en panmixie pendant plusieurs générations jusqu'à leur utilisation dans cette étude. Dans chacune des 17 lignées consanguines survivantes, des nymphes ont été isolées afin d'obtenir six mâles et six femelles vierges tirés au hasard parmi les émergences. Ces individus ont ensuite été appariés à l'âge de 10 jours après l'émergence pour former 6 couples par lignée. Chaque couple a été amené à se reproduire pendant 2 périodes successives de 3 jours. Chaque période de reproduction été réalisée dans une boîte en plastique (L x l x h : 18,5 x 12 x 9,5 cm) contenant du son de blé et un tube à centrifugation de 0,5 mL contenant de l'eau et obturé par un morceau de coton. La durée de trois jours pour chaque période de reproduction a été choisie afin de permettre l'obtention d'un nombre de descendants relativement important avec une précision assez bonne quant à la date de ponte de chaque descendant. La boîte contenant chaque ponte a reçu du son de blé *ad libitum*. Un mois après chaque période de reproduction, 6 larves (au maximum) parmi chaque ponte ont été prises au hasard et isolées dans des plaques de culture

cellulaire à fond plat de 6 puits et approvisionnées avec du son de blé *ad libitum*. Ces larves ont constitué les individus expérimentaux. À ce stade, chaque larve était identifiée par sa lignée d'origine, l'identité de ses parents, ainsi que sa date de ponte. Le nombre de larves isolées par lignée est présenté dans la Tableau P2.1. Tous les insectes, qu'ils proviennent de l'élevage d'origine, des lignées consanguines, ou les individus expérimentaux, ont été maintenus dans les conditions standard d'élevage, c'est-à-dire $24 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 5\%$ HR et dans l'obscurité constante.

B – Mesures au cours de la vie des individus

Les larves isolées ont été suivies 2 fois par semaine pendant leur développement larvaire pour déterminer la date de leur nymphose. Le temps écoulé entre la ponte et la nymphose constitue le temps de développement larvaire. Les nymphes ainsi obtenues ont été pesées, ce qui a permis de calculer le taux de croissance de chaque insecte par le rapport *masse nymphale / temps de développement*. Les insectes ont été isolés dans l'un des compartiments de boîtes (10 compartiments par boîtes, chaque compartiment mesurant : L 4.6 × l 3 × h 3 cm) au fur et à mesure de leur nymphose. Ils ont été ensuite suivis deux fois par semaine jusqu'à leur émergence. Le nombre de nymphes et d'adultes obtenus à partir des larves isolées sont présentés dans le Tableau P2.1. On peut d'ores et déjà y noter que la lignée 6.6 n'a fourni que 41 larves, soit 57 à 68% de moins que les autres lignées.

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

Tableau P2.1 : Nombre d'individus expérimentaux obtenus pour chaque stade de développement pour chaque lignée de *T. molitor*. Un maximum de 72 larves (12 larves venant de 2 pontes par couple de parents avec 6 couples par lignée) a été isolées par lignée.

Lignée	Larves	Nymphes	Adultes	Femelles	Mâles	Femelles utilisées pour les analyses
1.7	68	64	64	37	27	32
2.6	60	60	60	35	25	30
3.6	60	60	60	32	28	29
3.7	71	56	55	30	25	22
4.6	69	69	69	28	41	25
5.6	71	54	52	26	26	16
5.7	71	71	70	32	39	28
6.6	41	39	39	25	13	17
7.6	56	54	54	34	20	18
9.6	72	64	63	27	36	20
10.7	60	59	57	27	32	20
12.7	60	57	57	28	29	27
13.7	72	71	70	30	41	24
14.6	66	60	57	34	24	27
17.6	71	62	57	30	28	26
18.6	72	69	67	38	31	27
19.6	72	69	67	37	29	31

Une fois adultes, les individus, toujours isolés, ont été maintenus avec du son de blé *ad libitum* comme source d'alimentation principale et ont reçu chaque semaine un cube de pomme d'environ 4 mm³ comme source d'humidité et de sucre. Les adultes ont été maintenus ainsi pendant toute leur durée de vie, à l'exception des périodes durant lesquelles ils ont été évalués pour leur investissement à la reproduction précoce et tardive (voir ci-dessous). Chaque semaine, la mortalité des individus a été répertoriée et les corps ont été congelés, afin de mesurer ultérieurement la longueur des deux élytres avec un stéréo microscope Nikon SMZ 1500 associé au logiciel NIS Elements AR (version 4.00.03) pour estimer leur taille. Dans les analyses suivantes où intervient la taille des élytres, nous avons utilisé la moyenne de la longueur des deux élytres lorsque les deux élytres étaient en suffisamment bon état ou, à défaut, de la longueur de la seule élytre en bon état.

C – Étude des reproductions précoces et tardives

Durant leur vie d'adulte, les femelles expérimentales ont vécu deux périodes de reproduction. La première période, désignée comme précoce (ou R1 pour Reproduction 1 dans les calculs), est intervenue entre 10 et 20 jours post-émergence. Cet âge correspond au pic de fertilité de *T. molitor* (Dick, 1937 ; Drnevich *et al.*, 2001 ; Jehan *et al.*, 2020). La période plus tardive (désignée comme R2 dans les calculs) a eu lieu entre 40 et 50 jours post-émergence. L'âge de cette seconde période de reproduction a été choisie car correspondant à une période durant laquelle la sénescence reproductive est amorcée alors que la mortalité est encore quasi-inexistante (Jehan *et al.*, 2020), permettant ainsi de limiter les effets de la disparition sélective pour notre étude. Les performances reproductives des individus tôt et plus tard dans leur vie ont été estimées par le nombre d'œufs pondus pendant ces deux périodes de reproduction. Cette mesure étant pertinente seulement pour les femelles, les analyses qui ont suivi traitant de la reproduction n'ont utilisé que les femelles. La mesure de sénescence reproductive des mâles est complexe à mesurer et ne peut être qu'indirecte par rapport à celle des femelles (Jehan *et al.*, 2020), donc moins fiable. Elle n'a donc pas été mesurée ici. Cependant, afin de pouvoir comparer la survie entre les deux sexes dans des conditions comparables, les mâles ont tout de même effectué deux épisodes de reproduction aux mêmes périodes que les femelles.

Lors des périodes de reproduction, les individus expérimentaux ont été pesés et placés avec un partenaire du sexe opposé dans une boîte de Pétri dont le fond été couvert d'une couche de farine de blé. Les partenaires, vierges et âgés de 10 à 20 jours, provenaient du stock de l'élevage et étaient attribués aléatoirement. Un tube d'eau bouché d'un coton humide, un morceau de papier absorbant et un cube de pomme étaient placés dans la boîte de chaque couple. Les œufs de *T. molitor* pouvant éclore en moins de 10 jours (Ribeiro *et al.*, 2018), les couples ont été transférés dans de nouvelles boîtes après 5 jours. Au bout des 10 jours de la période de reproduction, les individus expérimentaux ont été à nouveau isolés. La farine des boîtes de Pétri a été ensuite tamisée (tamis de 200 μm) pour compter les œufs. À partir des comptages d'œufs, la fécondité totale des femelles a été calculée et correspond à la somme des œufs pondus au cours des deux périodes de reproduction :

$$\text{Fécondité totale} = R1 + R2$$

Afin d'étudier la sénescence reproductive, un indice de senescence reproductive a également été calculé pour les femelles, à partir du rapport entre la différence d'œufs produits lors des deux périodes de reproduction et de la fécondité totale :

$$\text{Indice de sénescence reproductive} = \frac{R2 - R1}{R1 + R2}$$

Le numérateur correspondant à $R2 - R1$, plus l'indice est petit, plus la sénescence est importante entre la période de reproduction précoce et tardive, c'est-à-dire, plus les performances reproductives baissent entre les deux périodes.

À noter que les analyses n'ont pu être menées que sur les femelles ayant survécu suffisamment longtemps pour réaliser les deux périodes de reproduction et n'ayant pas rencontré de problème particulier lors de celles-ci (Tableau P2.1).

D – Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été réalisées avec R studio et la version 4.1.2 de R (R Core Team, 2022).

Sept individus ayant mis plus de 300 jours à se développer, dont 4 sont d'ailleurs morts prématurément avant leur période de reproduction précoce, ont été retirés du jeu de données pour toutes les analyses. Il s'agissait d'un individu de la lignée 3.7 n'ayant pas pu être sexé car il n'a pas atteint le stade adulte, d'un mâle 7.6, d'une femelle 10.7, d'une femelle 13.7 et de 3 femelles 18.6.

1 – Caractérisation des lignées et identification de lignées souffrant de dépression de consanguinité

Avant de déterminer l'effet de la durée du développement et du taux de croissance sur les sénescences reproductive et actuarielle, il a d'abord été évalué si les lignées présentaient bien des différences dans leur développement et leur croissance. Les lignées ont également été caractérisées pour leur masse nymphale, la longueur des élytres, la fécondité totale (correspondant à la somme des œufs produits au cours des périodes de reproduction précoce et tardive) et la longévité adulte. Pour chacune de ces mesures, l'effet de la lignée et du sexe a été testé (sauf pour la fécondité totale où seules les femelles ont été utilisées) avec des modèles mixtes incluant un effet aléatoire sur l'identité des parents. Selon la normalité des

données et l’homoscédasticité des variances entre lignées (et sexes), les modèles étaient soit des modèles linéaires (package lme4, fonction lmer ; Bates *et al.*, 2023) pour le taux de croissance, la longueur des élytres, la fécondité totale et la longévité adulte, soit des modèles linéaires généralisés pour le temps de développement et la masse nymphale, avec une loi gamma et une fonction de lien logarithme (package lme4, fonction glmer ; Bates *et al.*, 2023). Les différences entre les lignées et les sexes, lorsque ces facteurs avaient un effet significatif, ont été déterminées par des comparaisons par paires des moyennes marginales estimées (package emmeans, fonction lsmean ; Lenth *et al.*, 2022) avec une correction des valeurs de p estimées de type False Discovery Rate (FDR). Pour chacune de ces mesures, les outliers par lignée ont été déterminés via un test de Rosner (package EnvStats, fonction rosnerTest ; Millard et Kowarik, 2023). Les effectifs pour chaque analyse sont disponibles dans le Tableau P2.2.

Tableau P2.2: Effectifs par lignée et par sexe pour les analyses servant à caractériser les lignées.

Lignée	Temps de développement		Masse nymphale		Taux de développement		Longueur des élytres		Fécondité totale		Longévité adulte	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1.7	37	27	37	27	37	27	35	27	32	-	37	27
2.6	34	25	35	25	35	25	35	24	30	-	35	25
3.6	32	27	32	28	32	28	31	27	29	-	32	28
3.7	30	25	30	25	30	25	30	25	22	-	30	25
4.6	28	41	28	41	28	41	28	41	25	-	28	40
5.6	26	26	26	26	26	26	25	25	16	-	26	26
5.7	31	38	32	39	32	38	32	39	28	-	32	39
6.6	25	13	25	13	25	13	24	12	17	-	25	13
7.6	33	19	34	19	33	19	29	19	18	-	34	19
9.6	27	35	27	36	27	36	27	36	20	-	27	36
10.7	25	31	25	31	25	32	25	32	20	-	26	32
12.7	28	29	28	29	28	29	28	27	27	-	28	29
13.7	29	40	29	40	29	41	29	38	24	-	29	40
14.6	34	24	34	24	34	24	31	23	27	-	34	24
17.6	30	28	30	28	30	28	28	27	26	-	30	28
18.6	35	29	34	31	35	31	33	31	27	-	35	31
19.6	37	28	37	29	37	29	37	29	31	-	37	28

Les résultats sur ces mesures ont mis en évidence que certaines lignées semblaient avoir des valeurs très faibles pour l’ensemble des mesures, suggérant que la consanguinité inhérente à la création des lignées pouvait avoir entraîné un fardeau en termes de fitness. Afin de

déterminer si ces lignées différaient réellement des autres pour l'ensemble de leurs traits, une analyse en composante principale a été conduite sur les femelles en utilisant les mêmes mesures (package FactoMineR, fonction PCA ; Husson *et al.*, 2023). Les lignées sortant du nuage de points généré par cette analyse ont été exclues des analyses ultérieures, afin d'éviter des erreurs d'interprétation dues à des phénomènes qui seraient liés à leur trop faible vigueur.

2 – Effet du temps de développement et du taux de croissance sur la sénescence reproductive de *T. molitor*

Pour tester l'effet de la vitesse de développement et de croissance sur la sénescence reproductive, deux approches complémentaires ont été employées. L'effet du temps de développement et celui du taux de croissance ont, dans un premier temps, été testés en utilisant l'indice de sénescence reproductive. Dans un second temps, pour affiner ces effets sur les performances reproductives précoces et tardives, le nombre d'œufs pondus par les femelles lors de ces deux périodes de reproduction a été analysé. Pour l'analyse de l'indice de sénescence, une sélection de modèle exhaustive a été effectuée avec comme modèle le plus complexe présentant comme effet fixe : le temps de développement ou le taux de croissance, le carré de ce dernier, la masse nymphale et la longévité adulte. La masse nymphale et la longévité adulte servaient d'indicateur de la qualité individuelle. Les modèles testés intégraient en effet aléatoire la lignée et l'identité des parents (modèles mixtes établis avec le package lme4, fonction lmer ; Bates *et al.*, 2023). Tous les modèles présentant un écart de 2 ou moins avec le modèle présentant le plus faible critère d'information d'Akaike (AIC) étaient considérés comme les meilleurs modèles (Galipaud, Gillingham et Dechaume-Moncharmont, 2017). Les modèles et leur AIC sont disponibles en Annexes 1 (Tableaux A.30 et A.31). Parmi ces modèles, il a été choisi de présenter les résultats de celui testant nos hypothèses sur le développement s'il était présent.

Pour l'analyse des performances reproductives précoces et tardives, la même procédure a été utilisée, mais avec comme modèle le plus complexe le temps de développement ou le taux de croissance, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement ou le taux de croissance et la période de reproduction, et l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction. Les modèles testés intégraient en effet aléatoire la lignée, l'identité des parents et l'identité

de l'individu expérimental (modèles mixtes établis avec le package lme4, fonction lmer ; Bates *et al.*, 2023). Les meilleurs modèles (écart d'AIC inférieur à 2 avec le modèle ayant le plus faible AIC) sont disponibles en Annexe 1 (Tableaux A.32 et A.33). Lorsque les interactions avec la période de reproduction étaient retenues dans le modèle présenté, les coefficients de la variable (développement ou longévité) pour chaque période de reproduction ont été estimés sous forme de moyennes marginales de tendance linéaire (package emmeans, fonction emtrends ; Lenth *et al.*, 2022).

Les mêmes analyses ont également été conduites en comparant les lignées, chaque lignée étant caractérisée par la moyenne du trait sous analyse (ex : moyenne des temps de développement). Dans le cas de l'analyse de l'indice de sénescence reproductive, les modèles testés ne présentaient donc plus d'effet aléatoire. Dans le cas des œufs produits au cours des périodes de reproduction précoce et tardive, les modèles intégraient la lignée en effet aléatoire. Les meilleurs modèles sont disponibles en Annexe 1 (Tableaux A.34 à A.37).

3 – Effet du temps de développement et du taux de croissance sur la longévité et la survie au cours de la vie de *T. molitor*

L'effet du temps de développement et du taux de croissance sur la longévité au stade adulte des *T. molitor* des 14 lignées consanguines a été testé, toujours soit en considérant tous les individus, soit les lignées via leurs moyennes. Lorsque les analyses ont considéré tous les individus, une sélection de modèle a été effectuée à partir d'un modèle incluant le temps de développement ou le taux de croissance, la masse nymphale (comme indice de qualité) et le sexe. Les modèles étaient des modèles linéaires mixtes avec comme facteur aléatoire la lignée et l'identité du couple de parents (modèles mixtes établis avec le package lme4, fonction lmer (Bates *et al.*, 2023)). Quand les moyennes de traits par lignées étaient considérées, un modèle linéaire a été sélectionné à partir d'un modèle incluant le temps de développement ou le taux de croissance moyen, leur carré et la masse nymphale moyenne (tous les individus, mâles et femelles ayant servi au calcul des moyennes, le sexe n'a pas été considéré ici). Tous les modèles présentant un écart de valeur d'AIC de 2 ou moins par rapport au modèle présentant le plus faible AIC, ont été considérés comme les modèles les plus appropriés pour expliquer la variation d'indice de sénescence (Galipaud, Gillingham et Dechaume-Moncharmont, 2017) (les meilleurs modèles et leur AIC sont présentés en Annexe 1 – Tableaux A.38 et A.39 pour

l'approche individuelle, respectivement avec le temps de développement ou le taux de croissance ; et Tableaux A.40 et A.41 pour l'approche avec les moyennes par lignée, respectivement avec le temps de développement ou le taux de croissance).

Afin de tester l'effet du développement sur la probabilité de survie de *T. molitor*, des régressions de Cox ont été utilisées. Ces régressions intégraient comme variables explicatives le temps ou le taux de développement, la longueur des élytres comme indicateur de la qualité individuelle et le sexe. Des modèles mixtes avec comme facteurs aléatoires, la lignée et l'identité des parents ont été employés (packages *coxme*, *survival* et *survminer*, fonction *coxme* ; Kassambara *et al.*, 2021 ; Therneau, 2022 ; Therneau *et al.*, 2022). Dans le cas de l'analyse de l'effet du temps de développement, une dépendance au temps de l'effet des variables explicatives a dû être intégrée car le modèle ne respectait pas l'hypothèse de proportionnalité inhérente à ce type d'analyse (Harrell, 2015). Comme précédemment, le modèle dont nous présentons les résultats d'une sélection exhaustive avec comme critère un écart de 2 à l'AIC le plus faible (Annexe 1 – Tableaux A.42 et A.43 pour les meilleurs modèles) (Galipaud, Gillingham et Dechaume-Moncharmont, 2017).

La sénescence actuarielle a également été caractérisée en modélisant les mortalités âge-spécifiques de chaque lignée pour obtenir des paramètres la caractérisant. Les paramètres suivants ont été estimés : le coefficient de sénescence, l'indice de sénescence et le seuil marquant le début de la sénescence. Les 5% d'individus les plus longévifs de chaque lignée ont été exclus afin d'obtenir des valeurs plus conservatrices (Fukui, Xiu et Curtsinger, 1993 ; Carey, 1998). Un modèle de Gompertz (Gompertz, 1825) a ensuite été établi à partir des valeurs de mortalités âge-spécifiques observées des lignées. Les valeurs de mortalité âge-spécifique ont été calculées à partir de la longévité adulte (exprimée en semaine) et correspondent pour chaque âge (t) à :

$$\text{Mortalité à l'âge } (t) = \frac{\text{Nombre de morts à l'âge } (t)}{\text{Nombre de vivants à l'âge } (t - 1)}$$

Le modèle Gompertz est fréquemment utilisé pour étudier la sénescence actuarielle (Juckett et Rosenberg, 1993 ; Carey, 1998 ; Ricklefs et Scheuerlein, 2002 ; Tai et Noymer, 2018) car les paramètres de la fonction correspondent à des paramètres de mortalité dont un lié directement à la sénescence. Il s'agit de la fonction :

$$\text{Mortalité \u00e2ge sp\u00e9cifique} = a \times e^{b \times \text{\u00e2ge}}$$

o\u00f9 a correspond \u00e0 un param\u00e8tre de mortalit\u00e9 intrins\u00e8que et b au coefficient de s\u00e9nescence actuarielle.

Les param\u00e8tres de Gompertz (a et b) et leurs intervalles de confiance \u00e0 95% ont \u00e9t\u00e9 d\u00e9termin\u00e9s pour chaque lign\u00e9e par ajustement de fonctions non lin\u00e9aires avec les moindres carr\u00e9s (package stats, fonction nls ; R Core Team, 2022). Ce type de fonction d'optimisation n\u00e9cessitant des param\u00e8tres de d\u00e9part, ceux-ci ont \u00e9t\u00e9 d\u00e9termin\u00e9s via une boucle d'optimisation utilisant \u00e9galement les moindres carr\u00e9s. Pour la d\u00e9termination des param\u00e8tres de la fonction de Gompertz, les points exp\u00e9rimentaux, correspondant aux mortalit\u00e9s \u00e2ge-sp\u00e9cifiques, ont \u00e9t\u00e9 pond\u00e9r\u00e9s par la racine carr\u00e9e du nombre d'individus vivants \u00e0 l'\u00e2ge $t-1$, afin de limiter le poids des derniers points pour lesquels un faible nombre de morts repr\u00e9sente une grande mortalit\u00e9.

Un indice de s\u00e9nescence actuarielle a \u00e9galement \u00e9t\u00e9 calcul\u00e9 \u00e0 partir des param\u00e8tres du mod\u00e8le de Gompertz g\u00e9n\u00e9r\u00e9 pr\u00e9c\u00e9demment, comme pr\u00e9conis\u00e9 par Rickleff et Scheuerlein (2002) :

$$\omega = \sqrt{a \times b}$$

Enfin, le moment seuil du d\u00e9but de la s\u00e9nescence actuarielle a \u00e9t\u00e9 d\u00e9termin\u00e9 en utilisant une r\u00e9gression lin\u00e9aire par morceaux (package segmented, fonction segmented ; Muggeo, 2008) o\u00f9 est estim\u00e9 un point caract\u00e9risant un changement de tendance. On consid\u00e8re que le d\u00e9but de la s\u00e9nescence actuarielle correspond \u00e0 ce point de changement de tendance. Pour chaque lign\u00e9e, le point correspondant au seuil de d\u00e9but de la s\u00e9nescence actuarielle a \u00e9t\u00e9 estim\u00e9 \u00e0 partir des mortalit\u00e9s \u00e2ge-sp\u00e9cifiques pr\u00e9dites par le mod\u00e8le de Gompertz. Des seuils de d\u00e9but de s\u00e9nescence ont aussi \u00e9t\u00e9 calcul\u00e9s \u00e0 partir des mortalit\u00e9s \u00e2ge-sp\u00e9cifiques observ\u00e9es. Cependant, certains seuils d\u00e9termin\u00e9s ainsi semblaient aberrants, certainement \u00e0 cause de la structure des donn\u00e9es qui montraient beaucoup d'oscillation entre des mortalit\u00e9s nulles et d'autres tr\u00e8s fortes pour des \u00e2ges avanc\u00e9s. Pour la suite, seuls les seuils d\u00e9termin\u00e9s via les pr\u00e9dictions des mod\u00e8les de Gompertz ont donc \u00e9t\u00e9 utilis\u00e9s. Cependant, pour information, les seuils obtenus directement avec les observations sont aussi disponibles en Annexe 4.

Pour cette étape de modélisation, il a été choisi de rassembler les mâles et les femelles afin de faciliter la détermination des paramètres en réduisant le « bruit » sur les derniers âges grâce à une taille d'échantillon un peu plus importante. Les différences entre sexes feront l'objet d'études ultérieures à cette thèse.

Pour vérifier le lien entre la vitesse de développement ou de croissance et la sénescence actuarielle, les coefficients de sénescence des modèles de Gompertz (b), les indices de sénescence actuarielle (ω) et les seuils de début de sénescence estimés via les modèles de Gompertz ont été mis en relation avec le temps de développement et le taux de développement moyens des lignées. Pour ces trois indicateurs de sénescence actuarielle, l'adéquation des modèles quadratiques et linéaires avec le temps de développement ou le taux de développement a été évaluée en les comparant entre eux et au modèle nul (package stats, fonction lm et anova).

4 – Héritabilité au sens large des différents traits d'histoire de vie des lignées consanguines de *T. molitor* et les corrélations génétiques entre ces traits

Pour estimer l'héritabilité et les corrélations génétiques entre les différentes mesures de traits d'histoire de vie des 14 lignées consanguines de *T. molitor* considérées, une démarche préconisée par Letendre *et al.* (2022) a été utilisée.

Les traits d'histoire de vie considérés ici ont été : le temps de développement, la masse nymphale, le taux de croissance, la longévité adulte, la longueur des élytres, le nombre d'œufs produits lors de la période de reproduction précoce, le nombre d'œufs produits lors de la période de reproduction tardive, la fécondité totale et l'indice de sénescence reproductive. Étant donné que des corrélations génétiques éventuelles entre les traits liés au développement ou à la croissance et à la reproduction étaient recherchées, ces analyses ont été effectuées uniquement sur les femelles, pour lesquelles la fécondité a pu être mesurée.

Pour ces calculs, les effectifs de toutes les lignées doivent être strictement identiques. Un alignement a été effectué sur le plus petit effectif obtenu parmi les lignées, soit 18 individus. Dans les autres lignées, 18 femelles ont alors été tirées au hasard pour effectuer les analyses.

Pour chaque trait d'histoire de vie, l'héritabilité au sens large H^2 a été estimée grâce à la méthode de David *et al.* (2005). Dans un premier temps, le coefficient de corrélation intra-classe a été calculé comme suit :

$$t = \frac{n \times V_{\text{inter}} - V_{\text{intra}}}{n \times V_{\text{inter}} + (n - 1) \times V_{\text{intra}}}$$

où n est le nombre de lignées consanguines (ici 14), V_{inter} est la variance entre lignées et V_{intra} la variance au sein des lignées. V_{inter} et V_{intra} ont été obtenues via une ANOVA avec la lignée comme effet fixe. L'erreur standard associée au coefficient de corrélation intra-classe a été calculée d'après Becker (1984) (cité par Letendre *et al.*, 2022) :

$$ES(t) = \sqrt{\frac{2 \times (1 - t)^2 \times |1 + (k - 1) \times t|^2}{k \times (k - 1) \times (n - 1)}}$$

avec k , le nombre d'individus par lignée (ici 18).

L'héritabilité au sens large H^2 et son erreur standard ont ensuite été calculées à partir de ces valeurs d'après David *et al.* (2005).

$$H^2 = \frac{2}{\left(\frac{1}{t} - 0,5\right)} \quad ES(H^2) = \frac{2}{\left(1 - \frac{t}{2}\right)^2} \times ES(t)$$

Les héritabilités au sens large des différents traits d'histoire de vie étaient considérées comme statistiquement significatives si le rapport de l'estimation de H^2 sur son erreur standard était supérieur à 1,96, valeur correspondant au seuil de significativité d'une loi de Student bidirectionnelle avec un degré de liberté infini (Letendre *et al.*, 2022).

Les corrélations génétiques (r) entre les traits et leur erreurs standards ($ES(r)$) ont été déterminées d'après la méthode de Roff et Preziosi (1994), plus adaptée que de simples corrélations entre moyennes par lignée lorsque l'estimation doit se faire avec un nombre limité de lignées consanguines ($N < 20$). Cette méthode utilise des corrélations entre les moyennes par lignée pour les différents traits avec une méthode de Jackknife. Cette méthode consiste en la délétion d'une lignée à chaque itération de rééchantillonnage. Cela permet d'obtenir, pour chaque couple de traits et chaque combinaison de lignées avec une en moins, une pseudo-valeur de coefficient de corrélation :

$$S_{N,i} = N \times r_N - (N - 1) \times r_{N-1,i}$$

où N est le nombre de lignées consanguines (14), r_N est le coefficient de corrélation de Pearson du couple de traits considéré avec toutes les lignées et $r_{N-1,i}$ est le coefficient de corrélation de Pearson du couple de traits considéré avec la lignée i en moins. Ainsi, $S_{N,i}$ est la pseudo-valeur du coefficient de corrélation génétique entre deux traits en considérant la lignée i en moins. À partir de ces pseudo-valeurs, on peut calculer le coefficient de corrélation estimé par la méthode de Jackknife entre les deux traits considérés (r) et son erreur standard ($SE(r)$) :

$$r = \frac{\sum_{i=1}^N S_{N,i}}{N} \qquad SE(r) = \frac{\sum_{i=1}^N (S_{N,i} - r)^2}{N \times (N - 1)}$$

La significativité statistique des coefficients de corrélation a été établie, comme précédemment, par la comparaison du rapport entre l'estimation et son erreur standard avec le seuil de 1,96.

Les indicateurs de sénescence actuarielle (c'est-à-dire le coefficient b de sénescence du modèle de Gompertz, l'indice ω et le seuil de début de la sénescence) ont été intégrés dans les calculs de corrélation, bien que leur héritabilité n'a pas pu être estimée car une seule valeur était disponible pour chaque lignée.

III – Résultats

A – Caractérisation des lignées consanguines de *Tenebrio molitor* et les lignées retenues pour les analyses

1 – Traits d'histoire de vie des lignées consanguines

Les lignées consanguines sont différentes pour tous les traits d'histoire de vie considérés : le temps de développement (Figure P2.1), la masse nymphale (Figure P2.2), le taux de croissance (Figure P2.3), la longueur des élytres (Figure P2.4), la fécondité totale des femelles (Figure P2.5) et la longévité des adultes (Figure P2.6).

Le temps de développement moyen varie de $136 \pm 5,0$ jours (moyenne \pm erreur standard) pour la lignée 2.6 à $172 \pm 6,6$ jours pour la lignée 7.6 (Figure P2.1).

Le sexe a eu un effet sur le temps de développement des individus issus des lignées, toutes lignées confondues ($\chi^2 = 4,42$; $df = 1$; $p = 0,036$). Les femelles ont mis globalement moins de

temps pour atteindre le stade nymphal que les mâles (femelles : $151 \pm 1,5$ jours ; mâles : $153 \pm 1,5$ jours).

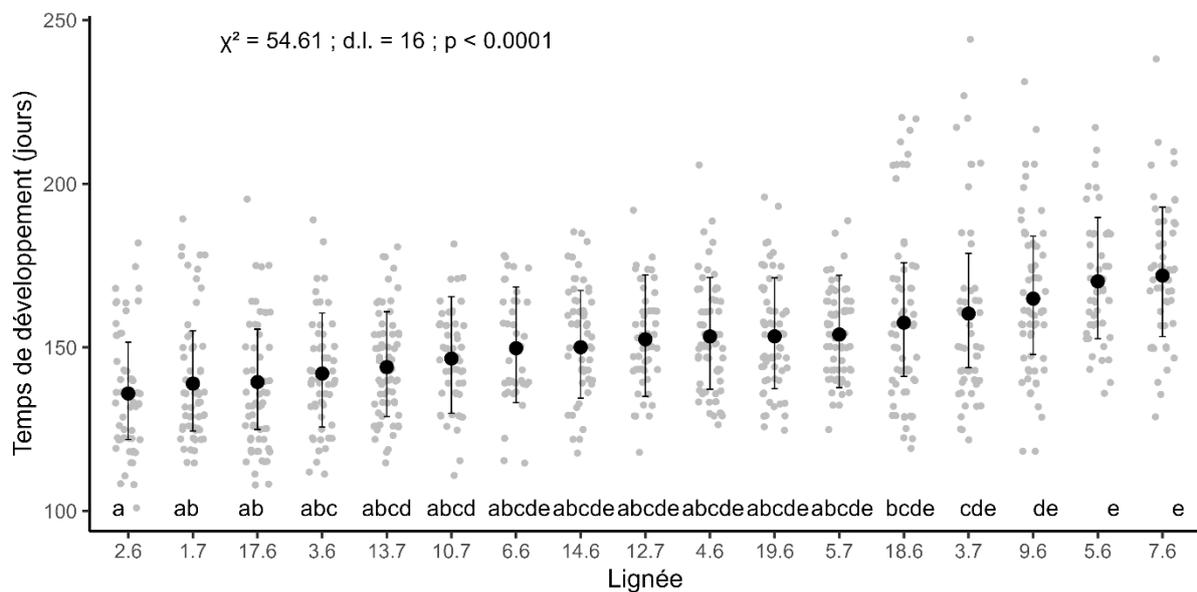


Figure P2.1 : Temps de développement larvaire en fonction des lignées consanguines. Les points en gris correspondent aux individus. Les points noirs sont les moyennes marginales estimées pour les lignées à partir d'un modèle mixte linéaire généralisé avec un loi gamma et comme fonction de lien un logarithme. Ce modèle incluait comme autre effet fixe le sexe et comme effet aléatoire l'identité des parents. Les barres noires sont les intervalles de confiance à 95% des moyennes marginales estimées. Les lignées avec les mêmes lettres ont des temps de développement larvaires non significativement différents (comparaison par paire avec correction de la significativité par la méthode FDR).

Parmi les lignées, les masses moyennes des nymphes s'étalent de $104 \pm 4,5$ mg pour la lignée 7.6 à $144 \pm 7,6$ mg pour 12.7 (Figure P2.2).

Les femelles, pour toutes les lignées confondues, ont une masse nymphale plus grande que celle des mâles ($\chi^2 = 12,11$; dl = 1 ; p = 0,0005 ; femelles : $125 \pm 1,4$ mg ; mâles : $122 \pm 1,4$ mg).

La comparaison des Figures P2.1 et P2.2, permet de constater que certaines lignées comme la lignée 7.6 ou la lignée 6.6 ne « profitent » pas de leur long temps de développement pour accumuler de la masse, puisque les nymphes obtenues dans ces lignées sont aussi les plus légères. Ce type d'observations suggère que certaines lignées pourraient souffrir de performances très faibles en raison de la consanguinité. L'identification de telles lignées et le propos de la sous-partie suivante.

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

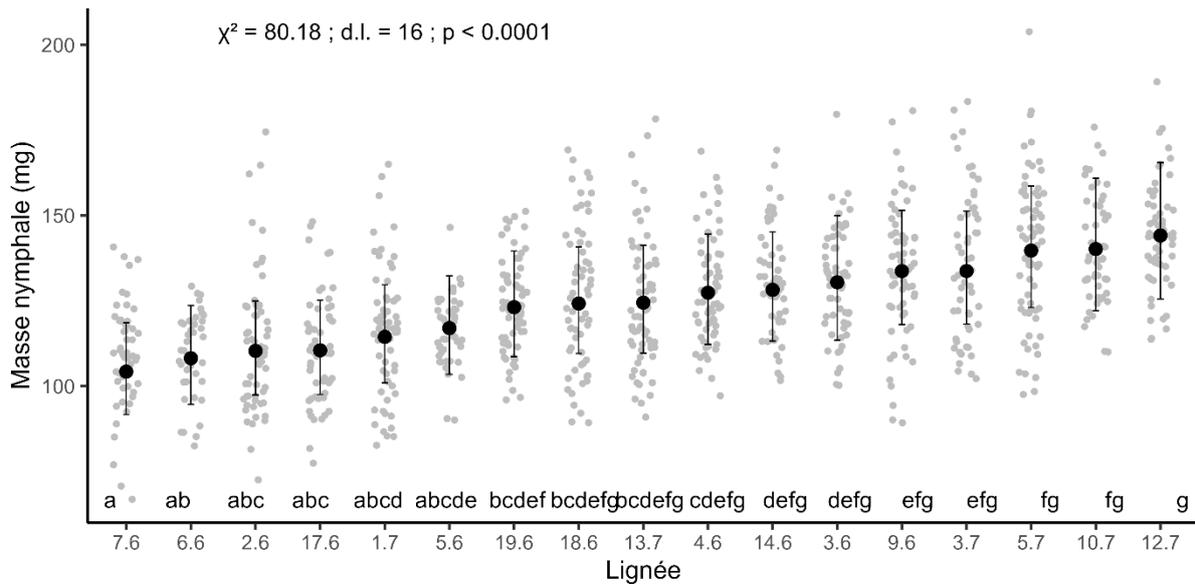


Figure P2.2 : Masse nymphale en fonction des lignées consanguines. Les points en gris correspondent aux individus. Les points noirs sont les moyennes marginales estimées pour les lignées à partir d'un modèle mixte linéaire généralisé avec un loi gamma et comme fonction de lien un logarithme. Ce modèle incluait comme autre effet fixe le sexe et comme effet aléatoire l'identité des parents. Les barres noires sont les intervalles de confiance à 95% des moyennes marginales estimées. Les lignées avec les mêmes lettres ont des masses nymphales similaires. Ces différences entre lignées ont été établie par comparaison par paire avec correction de la significativité par la méthode FDR.

Les taux de croissance moyens des lignées sont compris entre $0,63 \pm 0,03$ mg/jour pour la lignée 7.6 et $0,96 \pm 0,03$ mg/jour pour la lignée 10.7 (Figure 2.3). La majorité des lignées ont un taux de croissance autour de 0,8 mg/jour. Cependant, deux lignées se détachent avec des taux de croissance sensiblement plus bas que les autres : 7.6 et 5.6 ; auxquelles on peut également inclure la lignée 6.6, bien que similaire à d'autres lignées ayant des valeurs intermédiaires (Figure P2.3).

Logiquement, compte tenu du fait que les femelles se développent en moins de temps et présentent des masses nymphales plus grandes que les mâles, elles ont alors un taux de croissance plus élevé ($\chi^2 = 24,50 ; d.l. = 1 ; p < 0.0001$; femelles : $0,85 \pm 0,008$ mg/jour ; mâles : $0,81 \pm 0,008$ mg/jour).

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

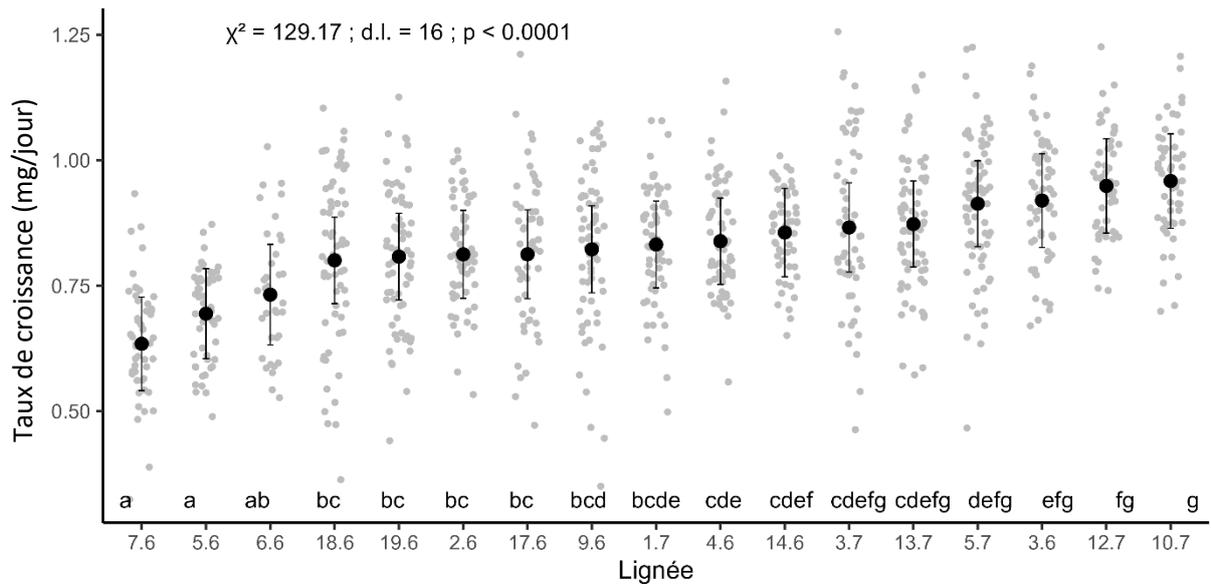


Figure P2.3 : Taux de croissance larvaire en fonction des lignées consanguines. Les points en gris correspondent aux individus. Les points noirs sont les moyennes marginales estimées pour les lignées à partir d'un modèle mixte linéaire. Ce modèle incluait comme autre effet fixe le sexe et comme effet aléatoire l'identité des parents. Les barres noires sont les intervalles de confiance à 95% des moyennes marginales estimées. Les lignées avec les mêmes lettres ont des taux de croissance larvaires similaires. Ces différences entre lignées ont été établies par comparaison par paire avec correction de la significativité par la méthode FDR.

Les longueurs d'élytre varient parmi les lignées avec la taille moyenne la plus petite pour la lignée 17.6 ($8,98 \pm 0,11$ mm) et la taille moyenne plus grande pour la lignée 12.6 ($10,08 \pm 0,12$ mm) (Figure P2.4).

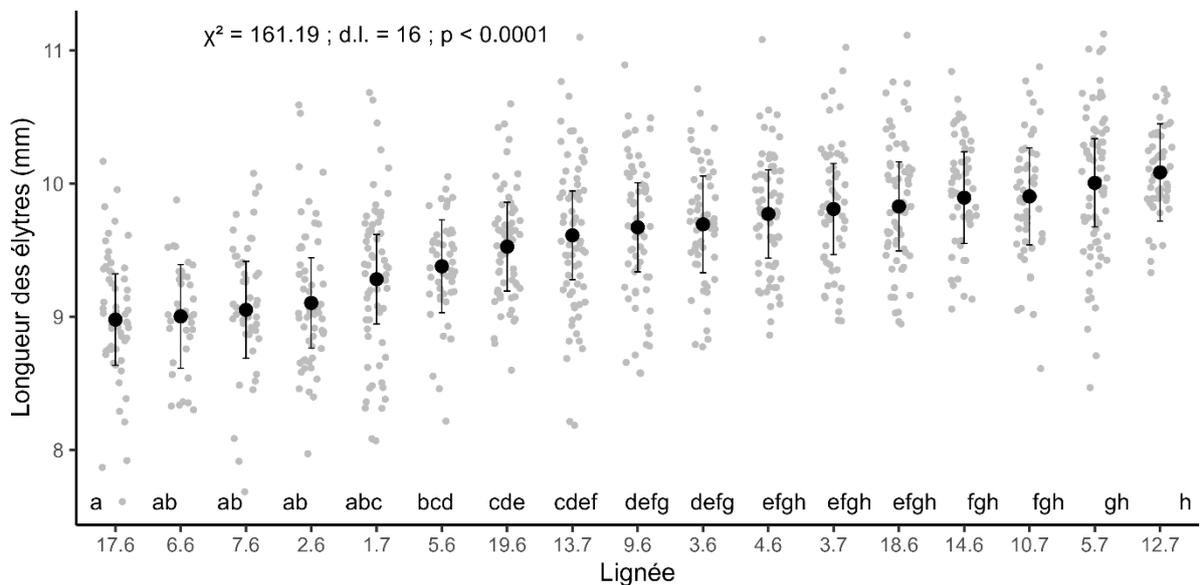


Figure P2.4 : Longueur des élytres en fonction des lignées consanguines. Les points en gris correspondent aux individus. Les points noirs sont les moyennes marginales estimées pour les lignées à partir d'un modèle mixte linéaire. Ce modèle incluait comme autre effet fixe le sexe et comme effet aléatoire l'identité des parents. Les barres noires sont les intervalles de confiance à 95% des moyennes marginales estimées. Les lignées avec les mêmes lettres ont des longueurs d'élytres similaires. Ces différences entre lignées ont été établies par comparaison par paire avec correction de la significativité par la méthode FDR.

Comme pour la masse nymphale, les femelles sont plus grandes que les mâles ($\chi^2 = 29,83$; dl = 1 ; $p < 0.0001$; femelles : $9,64 \pm 0,03$ mm ; mâles : $9,49 \pm 0,03$ mm).

Pour le nombre d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction, les lignées 5.6, 6.6 et 7.6, sont celles qui, comme pour les valeurs du taux de croissance, présentent les performances les plus faibles (Figure P2.5).

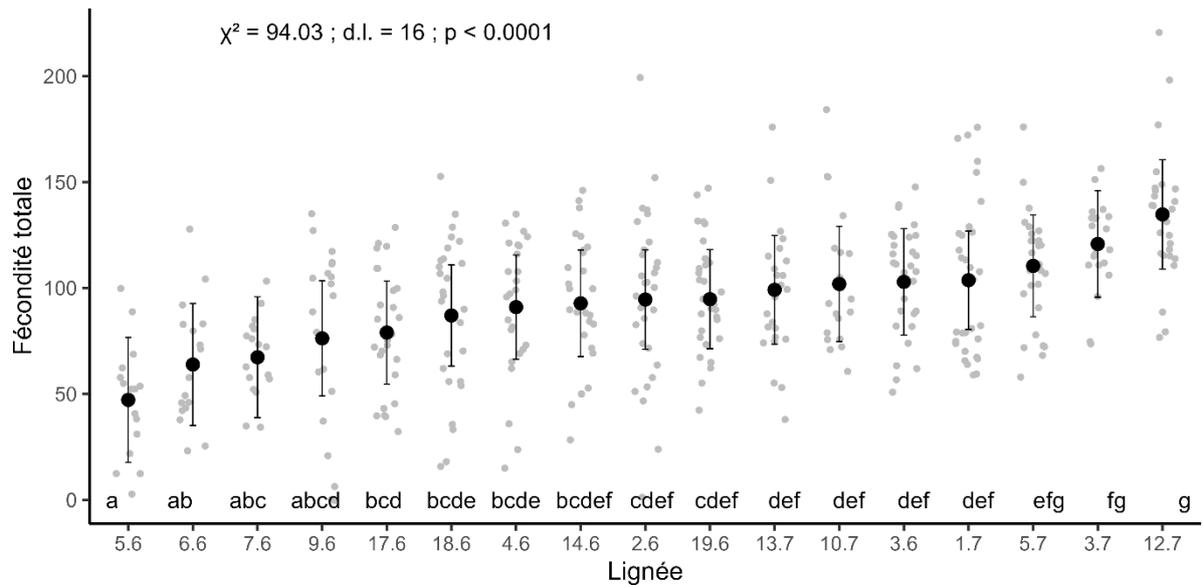


Figure P2.5 : Fécondité totale, correspondant à la somme des nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction (précoce et tardive), des femelles en fonction des lignées consanguines. Les points en gris correspondent aux individus. Les points noirs sont les moyennes marginales estimées pour les lignées à partir d'un modèle mixte linéaire. Ce modèle incluait comme effet aléatoire l'identité des parents. Les barres noires sont les intervalles de confiance à 95% des moyennes marginales estimées. Les lignées avec les mêmes lettres ont des fécondités totales similaires. Ces différences entre lignées ont été établies par comparaison par paire avec correction de la significativité par la méthode FDR.

Les lignées 5.6, 6.6 et 7.6 comptaient également parmi les lignées avec la plus faible longévité adulte (Figure P2.6).

Le sexe n'avait pas d'effet sur la longévité des adultes ($\chi^2 = 0,96$; dl = 1 ; $p = 0,33$).

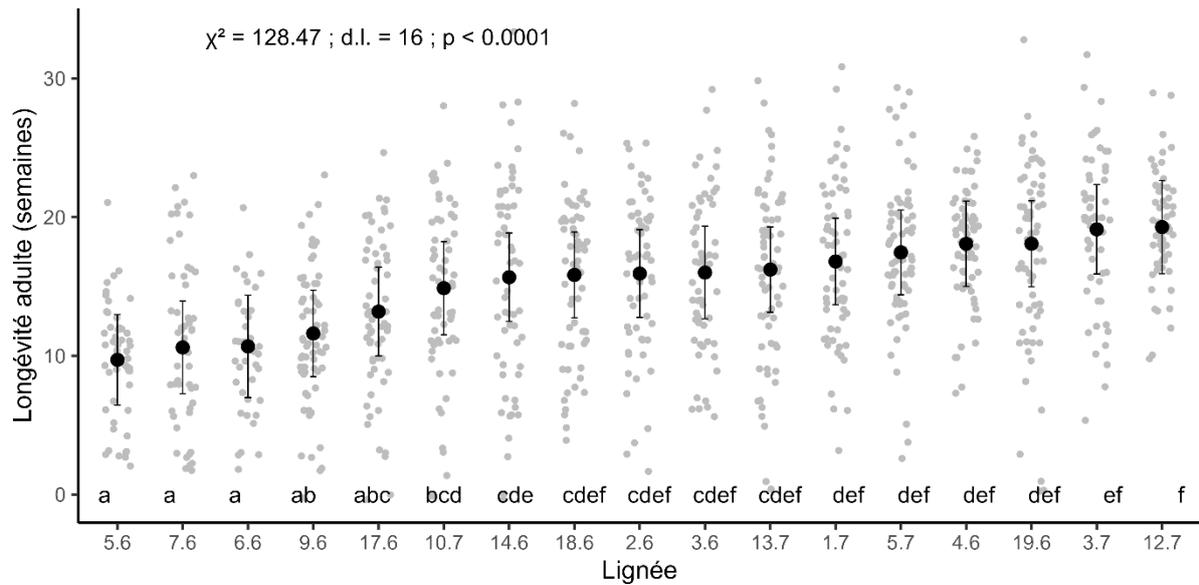


Figure P2.6 : Longévité adulte en fonction des lignées consanguines. Les points en gris correspondent aux individus. Les points noirs sont les moyennes marginales estimées pour les lignées à partir d'un modèle mixte linéaire. Ce modèle incluait comme autre effet fixe le sexe et comme effet aléatoire l'identité des parents. Les barres noires sont les intervalles de confiance à 95% des moyennes marginales estimées. Les lignées avec les mêmes lettres ont des longévités adultes similaires. Ces différences entre lignées ont été établies par comparaison par paire avec correction de la significativité par la méthode FDR.

2 – Identification de trois lignées souffrant d'une forte dépression de consanguinité

Comme suggéré par les résultats précédents, certaines lignées, à savoir les lignées 5.6, 6.6, 7.6 et, selon les traits d'histoire de vie considérés, les lignées 9.6 et 17.6, semblaient avoir des traits de vie plus dégradés que les autres. Certaines de ces sous-performances pourraient être le résultat de relations (positives ou négatives) avec d'autres traits. Cependant, les lignées 5.6 et 7.6 (dans une moindre mesure 6.6) semblent ne pas suivre la tendance des autres lignées en termes de relation positive entre le temps de développement et la masse atteinte en fin de développement, relation plutôt classique (Figure P2.7).

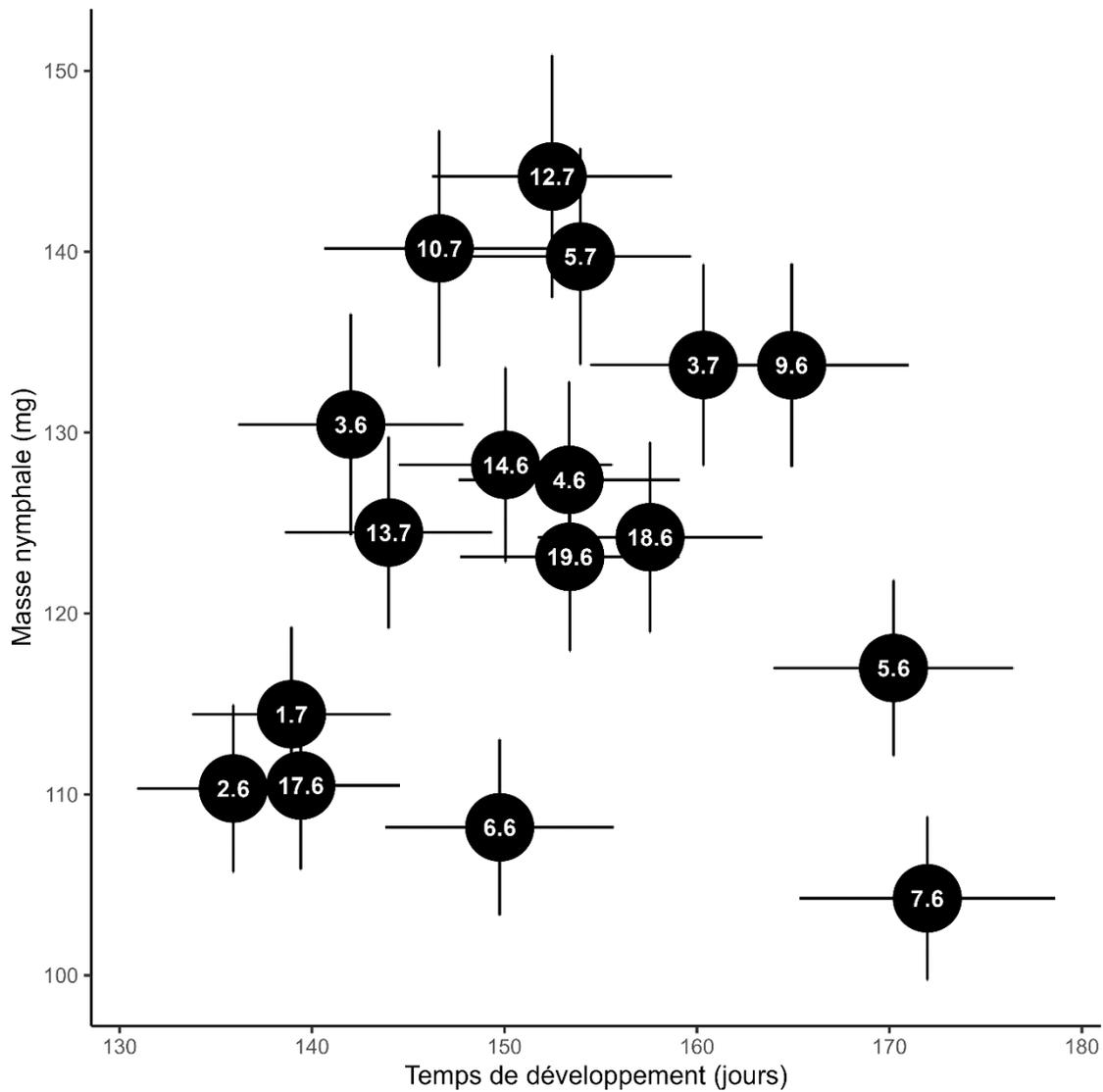


Figure P2.7 : Masses nymphales moyennes (mg) des lignées en fonction de leur temps de développement moyen (jours). Les barres verticales correspondent aux erreurs standard des masses nymphales et les horizontales à celles des temps de développement.

Pour tester si ces lignées se démarquaient des autres sur l'ensemble des traits de vie, une analyse en composante principale (ACP) a été effectuée en incluant toutes les mesures de traits d'histoire de vie présentées précédemment.

Les deux premiers axes de cette ACP représentent 70% de la variabilité observée (Figure P2.8). Dans le quart supérieur gauche de la projection de l'analyse, caractérisé par un temps de développement long et des valeurs faibles pour toutes les autres variables (masse nymphale, taux de croissance, longueur des élytres, fécondité totale et longévité adulte), nous pouvons trouver les lignées 5.6 et 7.6, dont les ellipses de confiance à 95% ne se superposent pas avec celles des autres lignées. Ainsi, il a été choisi de retirer ces lignées des analyses ultérieures.

L'ellipse de confiance à 95% de la lignée 6.6 recoupe très légèrement celles des lignées 17.6 et 2.6 (Figure P2.8). Cependant, ce recouvrement est très léger, alors que les ellipses des autres lignées se superposent sur plus de 5% de leurs valeurs avec au moins une autre lignée. De plus, la quasi-totalité des animaux de cette lignée 6.6 présentaient des malformations, notamment au niveau des élytres. Enfin, nous avons précédemment observé que la lignée 6.6 a produit sensiblement moins de géniteurs que toutes les autres lignées (Tableau P2.1). Ces trois critères nous ont poussé, par mesure de prudence, à retirer également la lignée 6.6 des analyses ultérieures.

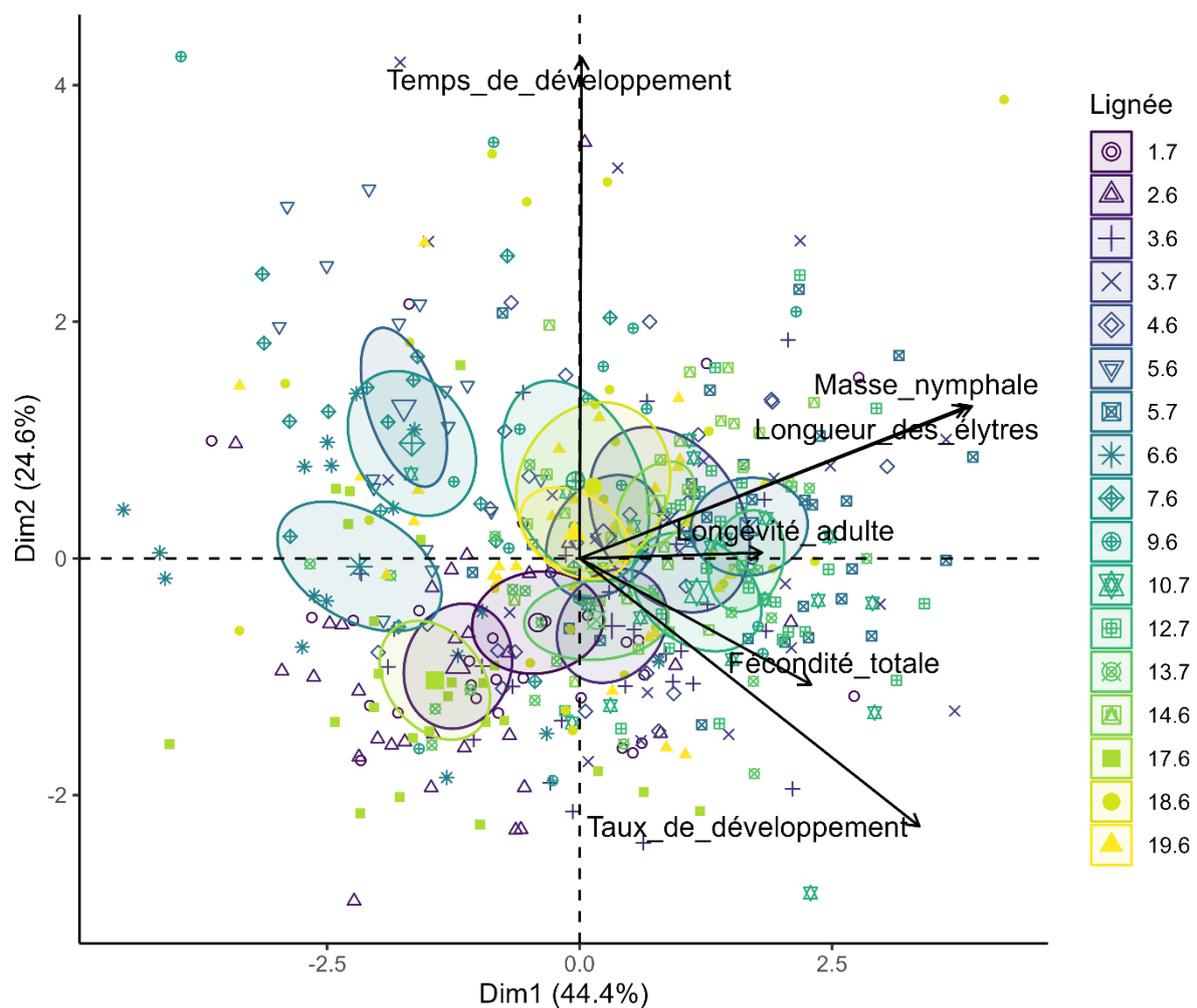


Figure P2.8 : Projection des individus et des variables sur les deux premiers axes issus de l'analyse en composante principale sur les femelles des 17 lignées consanguines de *T. molitor* avec comme variables : le temps de développement larvaire, la masse nymphale, le taux de croissance larvaire, la longueur des élytres, la fécondité totale (somme des œufs pondus lors des deux périodes de reproduction) et la longévité des adultes. Les ellipses correspondent à l'intervalle de confiance à 95% du barycentre de la lignée consanguine.

B – Sénescence reproductive et variation du développement

1 – Analyse avec valeurs individuelles

a – Effet du temps de développement larvaire

Que l'on considère l'analyse de l'indice de sénescence reproductive ou l'analyse directe du nombre d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction, le temps de développement a une influence significative sur la sénescence reproductive (Tableaux P2.3 et Figures P2.9). Dans un premier temps, une relation quadratique a été obtenue entre le temps de développement et l'indice de sénescence reproductive (Tableau P2.3 A), laissant penser qu'il existe un optimum où la sénescence reproductive est plus faible pour un temps de développement d'environ 190 jours (Figure P2.9 A). Il faut cependant noter que relativement peu d'individus ont montré un temps de développement au-delà de 190 jours. Sur la section allant de 100 à 190 jours, plus les femelles ont mis de temps à se développer, moins leur sénescence reproductive a été forte (c'est-à-dire, plus l'indice de sénescence était grand). Ce résultat concorde avec les hypothèses de départ. Ni la masse nymphale, ni la longévité n'ont eu d'effet sur la sénescence reproductive (non retenues dans le modèle) (Tableau P2.3 B).

Tableau P2.3 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du temps de développement larvaire sur la sénescence reproductive, estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) les nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction. N = 370 femelles. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ». Les lignes ne présentant pas d'information correspondent aux variables non retenues dans le modèle. Les modèles statistiques testés sont des modèles linéaires mixtes avec comme effet aléatoire (A) la lignée et l'identité des parents ou (B) la lignée, l'identité des parents et l'individu puisque dans ce second cas, nous avons deux mesures par femelles (une pour la reproduction précoce et une pour la tardive). Les modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 – Tableaux A.30 et A.32. Les valeurs de p montrant un effet statistiquement significatif ($p < 0,05$) sont en gras.

(A) Indice de sénescence reproductive

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.l.	p
Temps de développement	0,019	0,007	6,45	1	0,011
Temps de développement ²	0,00005	0,00002	4,84	1	0,028
Masse nymphale	-	-	-	-	-
Longévité adulte	-	-	-	-	-

(B) Nombre d'œufs

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.l.	p
Temps de développement	-0,27	0,05	14,9	1	0,0001
Masse avant reproduction	0,37	0,06	44,6	1	< 0,0001
Période de reproduction (Tardive)	-47,2	9,36	136,5	1	< 0,0001
Longévité adulte	0,77	0,18	19,1	1	< 0,0001
Temps de développement : Période			11,4	1	0,0007
Longévité adulte : Période	-	-	-	-	-

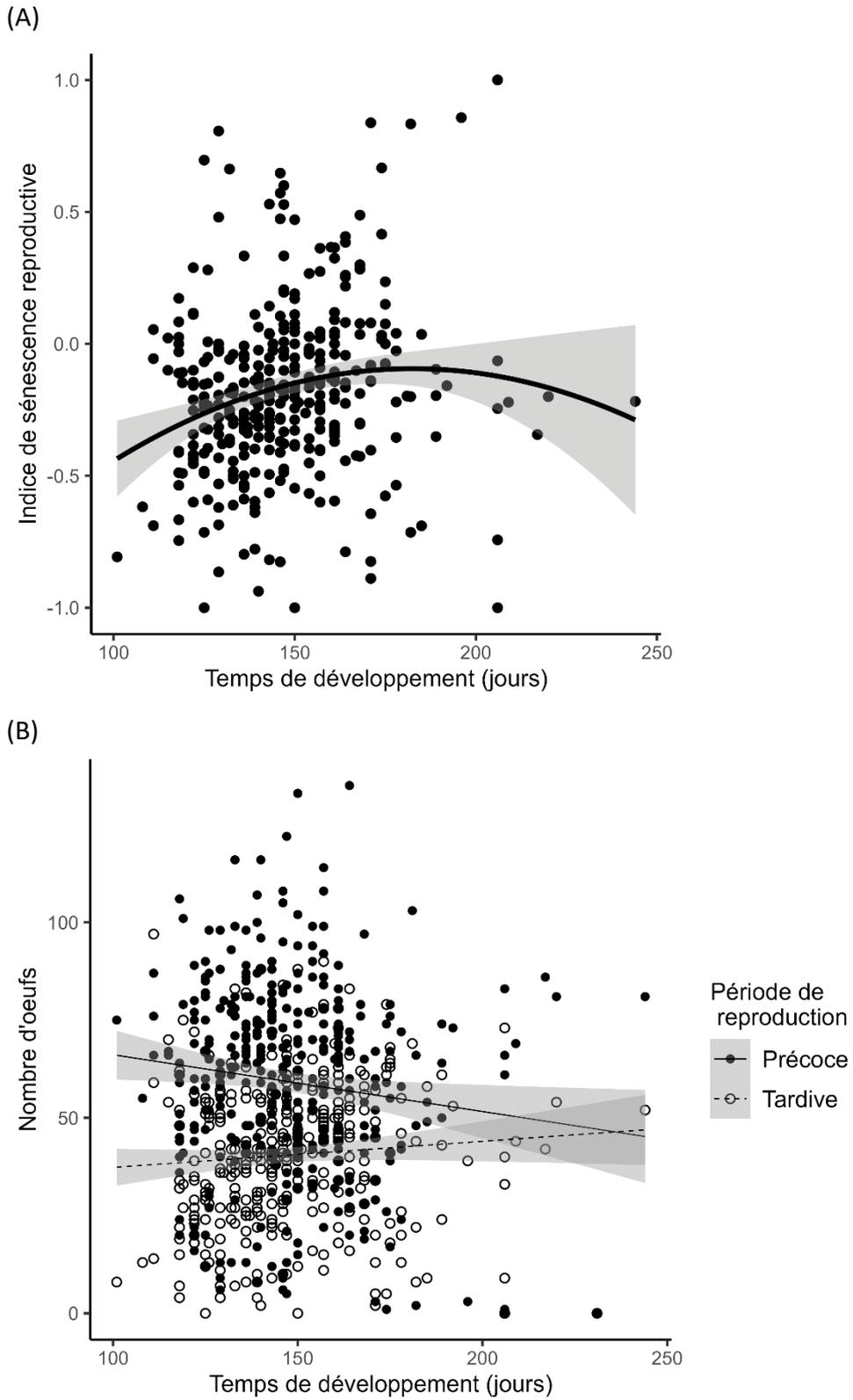


Figure P2.9 : Sénescence reproductive des femelles *T. molitor* des différentes lignées consanguines en fonction du temps de développement larvaire. La sénescence est illustrée par (A) l'indice de sénescence reproductive (calculé comme le rapport entre la différence entre les reproductions tardive et précoce, et la fécondité totale) et (B) le nombre d'œufs pondus en périodes de reproduction précoce et tardive. N = 370 pour (A) et (B) avec deux mesures (précoce et tardive) par femelle pour (B). Les droites et courbes sont issues de régressions linéaires ou quadratiques avec leur intervalle de confiance à 95%.

L'analyse portant sur les nombres d'œufs pondus par période de reproduction donne davantage de détails. Comme prévu avec les âges choisis pour les périodes de reproduction, les femelles ont pondu globalement plus d'œufs lors de la période précoce que lors de la période tardive (Tableau P2.3 B). L'influence du temps de développement sur la sénescence est ici représentée par la significativité de l'interaction entre cette variable et la période de reproduction (Tableau P2.3 B). Ainsi, au cours de la période de reproduction précoce, soit au moment du pic supposé de fertilité de *T. molitor*, plus les femelles se sont développées rapidement, plus elles ont pondu d'œufs (Figure P2.9 B). En revanche, lorsque l'on considère la période de reproduction tardive, il n'y a pas d'influence du temps de développement sur le nombre d'œufs pondus (Figure P2.9 B). Ces relations impliquent que les femelles ayant mis le plus de temps à se développer ne présentent pas ou peu de différence en nombre d'œufs pondus tôt et tard dans la vie.

Ainsi, la sénescence accrue des femelles s'étant développées rapidement (Figure P2.9 A) résulte du fait qu'elles ont produit plus d'œufs durant la période reproductive précoce que celles s'étant développées plus longtemps (Figure P2.9 B). Par contre, elles ont produit autant d'œufs que les autres durant la période de reproduction tardive (Figure P2.9 B).

Par ailleurs, les femelles les plus lourdes avant les périodes de reproduction ont pondu plus d'œufs (Tableau P2.3 B, Figure P2.10). Le nombre d'œufs pondus a aussi globalement été plus important chez les femelles les plus longévives (Tableau P2.3 B, Figure P2.11).

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

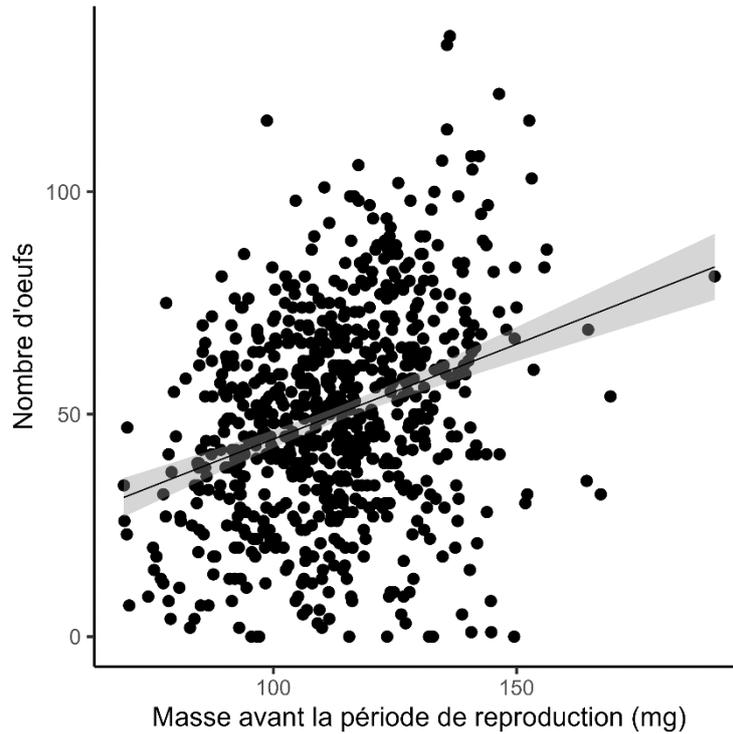


Figure P2.10 : Nombre d'œufs pondus par les femelles *T. molitor* des 14 lignées consanguines, périodes de reproduction confondues, en fonction de leur masse avant la période. La droite est une droite de régression linéaire avec son intervalle de confiance à 95%.

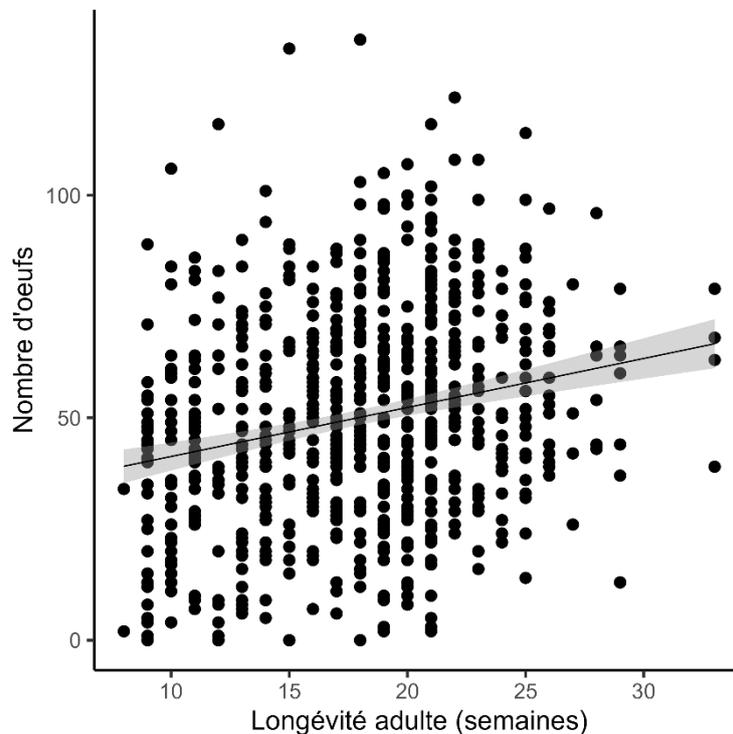


Figure P2.11 : Nombre d'œufs pondus par les femelles *T. molitor* des 14 lignées consanguines, périodes de reproduction confondues, en fonction de leur longévité sur leur phase adulte. La droite est une droite de régression linéaire avec son intervalle de confiance à 95%.

b – Effet du taux de développement larvaire

Le taux de croissance, c'est-à-dire le gain de masse par jour lors de la phase larvaire, a également eu un effet sur la sénescence reproductive. En effet, plus les femelles ont eu un taux de croissance important, plus leur indice de sénescence reproductive est faible, indicatif d'une sénescence reproductive plus prononcée (Tableau P2.4 A et Figure P2.12 A). Contrairement aux résultats concernant le temps de développement, la relation retenue entre l'indice de sénescence reproductive et le taux de croissance n'est pas quadratique (Tableau P2.4 A). Comme précédemment, concernant l'analyse sur le nombre d'œufs pondus, les femelles qui ont présenté un taux de croissance fort sont aussi celles pour lesquelles la sénescence reproductive était la plus forte, notamment parce qu'elles ont produit plus d'œufs tôt dans la vie que les femelles qui ont présenté un taux de croissance plus faible (Tableau P2.4 B, Figure P2.12 B). La fécondité tardive des femelles qui ont présenté un fort taux de croissance a été équivalente à celle des femelles qui ont eu un taux de croissance plus faible (Tableau P2.4 B, Figure P2.12 B). Les femelles qui ont eu un taux de développement relativement faibles ont montré une fécondité relativement constante avec l'âge (Figure P2.12 B).

La masse nymphale, indicative des réserves en début de vie adulte, a eu un effet protecteur vis-à-vis de la sénescence reproductive (Tableau P2.4 A). La masse nymphale et la longévité adulte sont des indicateurs de la qualité des individus. Cependant, la longévité, contrairement à la masse nymphale, n'a pas eu d'effet sur l'indice de sénescence reproductive (Tableau 2.4 A).

Les femelles ont pondu globalement moins d'œufs lorsqu'elles étaient plus âgées (Tableau 2.4 B et Figure 2.12 B). De plus, les femelles les plus lourdes avant les périodes de reproduction ainsi que celles qui ont été les plus longévives ont globalement été plus fécondes (Tableau 2.4 B, Figures P2.10 et P2.11). La longévité n'a cependant pas eu d'effet différent selon la période de reproduction (Tableau 2.4 B), résultat logique compte tenu de l'absence d'effet de la longévité sur l'indice de sénescence reproductive (Tableau 2.4). Les effets de la masse et, surtout, de la longévité, pourraient être directement liés à la qualité des individus.

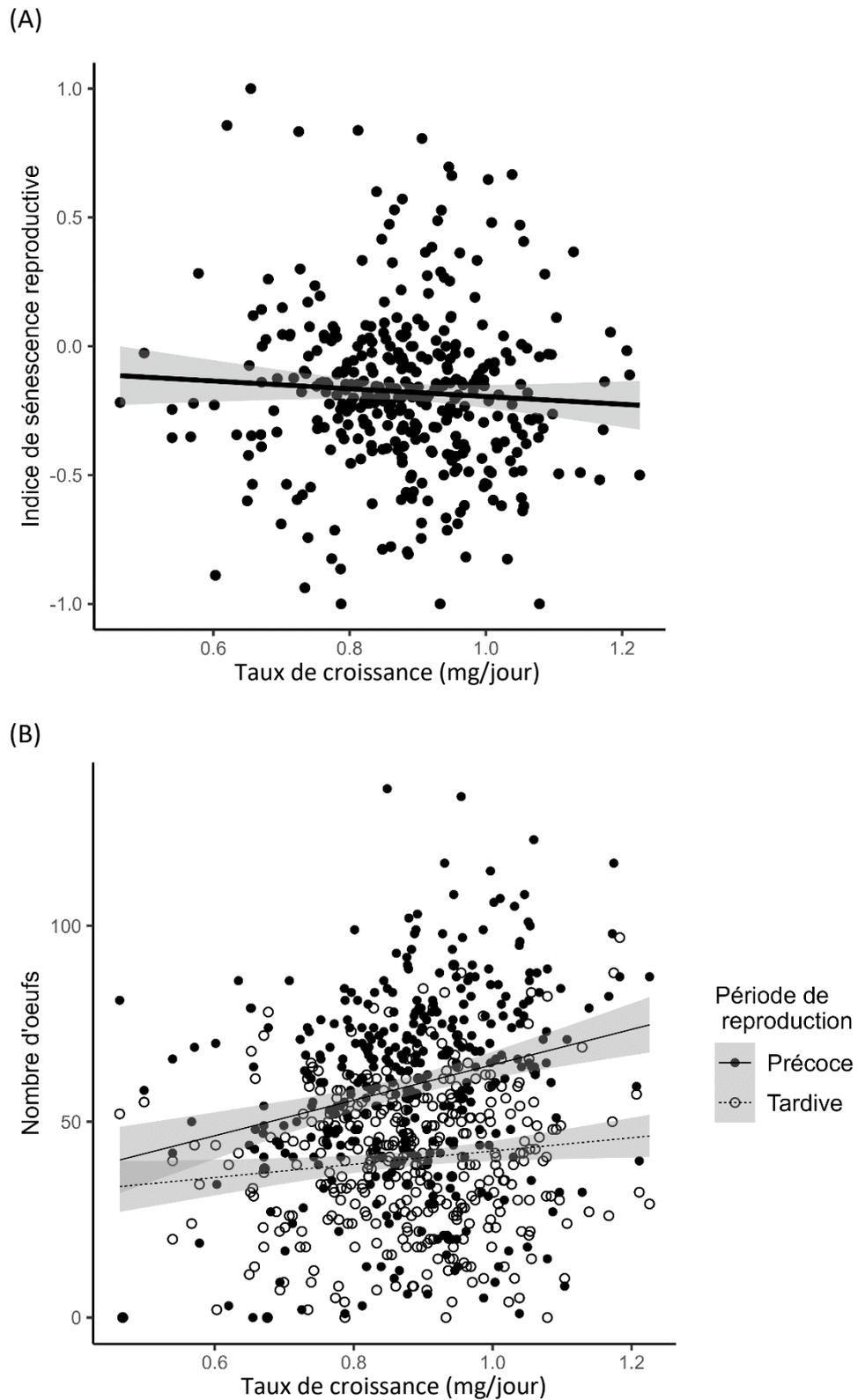


Figure P2.12 : Sénescence reproductrice des femelles *T. molitor* des différentes lignées consanguines en fonction du taux de croissance larvaire, approchée par (A) l'indice de sénescence reproductrice (calculé comme le rapport entre la différence entre les reproductions tardive et précocé, et la Fécondité totale) et (B) le nombre d'œufs pondus en période de reproduction précocé et tardive. N = 370 pour (A) et (B) avec deux mesures (précocé et tardive) par femelle pour (B). Les droites sont des droites de régressions linéaires avec leurs intervalles de confiance à 95%.

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

Tableau P2.4 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du taux de croissance larvaire sur la sénescence reproductive estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) le nombre d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction. N = 370 femelles. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ». Les lignes ne présentant pas d'information correspondent aux variables non retenues dans le modèle. Les modèles statistiques testés sont des modèles linéaires mixtes avec comme effet aléatoire (A) la lignée et l'identité des parents ou (B) la lignée, l'identité des parents et l'individu puisque dans ce second cas, nous avons deux mesures par femelles (une pour la reproduction précoce et une pour la tardive). Les meilleurs modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 – Tableaux A.31 et A.33. Les valeurs de p montrant un effet statistiquement significatif ($p < 0,05$) sont en gras.

(A) Indice de sénescence reproductive					
Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.l.	p
Taux de croissance	-0,46	0,17	7,69	1	0,006
Taux de croissance ²	-	-	-	-	-
Masse nymphale	0,004	0,001	10	1	0,002
Longévité adulte	-	-	-	-	-
(B) Nombre d'œufs					
Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.l.	p
Taux de croissance	23,05	9,58	1,42	1	0,23
Masse avant reproduction	0,26	0,06	16,78	1	< 0,0001
Période de reproduction (Tardive vs Précoce)	6,27	9,19	142,45	1	< 0,0001
Longévité adulte	0,75	0,18	17,9	1	< 0,0001
Taux de croissance : Période			6,4	1	0,01
Longévité adulte : Période	-	-	-	-	-

2 – Approche en considérant les moyennes des lignées

Aucune des variables testées (temps de développement ou taux de croissance, carré du temps de développement ou taux de croissance, masse nymphale et longévité adulte) n'a eu d'effet significatif sur l'indice de sénescence reproductive (modèle avec temps de développement : $p = 0,14$; modèle avec taux de croissance : $p = 0,31$; voir Annexe 1 – Tableaux A.34 et A.35 pour les meilleurs modèles).

L'analyse directe du nombre d'œufs montre que les lignées produisent globalement moins d'œufs en période de reproduction tardive (Figure P2.13 B). L'interaction entre développement ou croissance et période de reproduction a été retenue dans les deux modèles (Tableaux P2.5 et Figures P2.13). Cependant, dans le cas du temps de développement, cette interaction n'était pas significative (Tableau P2.5 A). L'effet différent du taux de croissance sur le nombre d'œufs pondus selon la période de reproduction indique un effet sur la sénescence reproductive (Figure P2.13 B). Les tendances sont les mêmes qu'avec l'approche précédente considérant les femelles individuellement. Ainsi, bien que le nombre d'œufs moyen pondus par les lignées semble augmenter avec l'accélération de la croissance

quelle que soit la période de reproduction considérée (Figure P2.13 B), plus les lignées ont une croissance élevée, plus l'écart entre la période précoce et la période tardive de reproduction est grand. Comme précédemment, il semble donc que l'effet de la croissance sur la sénescence vient d'un plus fort investissement dans la reproduction précoce parmi les lignées à fort taux de croissance.

Tableau P2.5 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse du nombre d'œufs moyen pondus par lignée lors des périodes de reproduction précoce et tardive avec dans le modèle (A) du temps de développement larvaire et (B) du taux de croissance larvaire. N = 14 lignées consanguines. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables », avec comme valeurs, les moyennes par lignée. Les lignes ne présentant pas d'information correspondent donc à des variables non retenues dans le modèle. Les modèles statistiques testés sont des modèles linéaires mixtes avec comme effet aléatoire la lignée car nous avons deux moyennes par lignée (une pour la reproduction précoce et une pour la tardive). Les meilleurs modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 – Tableaux A.36 et A.37. Les valeurs de p montrant un effet statistiquement significatif ($p < 0,05$) sont en gras.

(A) Temps de développement

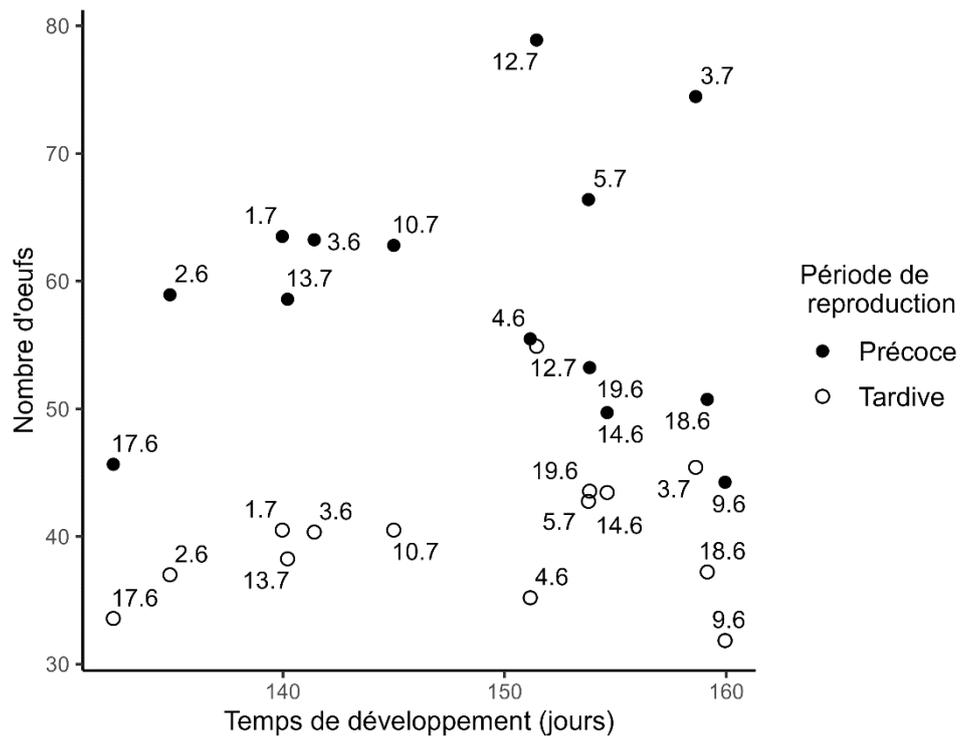
Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.l.	p
Temps de développement	-0,58	0,21	7,47	1	0,006
Masse avant reproduction	0,61	0,18	12,1	1	0,0005
Période de reproduction (Tardive)	-37,58	29,89	40,64	1	< 0,0001
Longévité adulte	1,79	0,59	9,2	1	0,002
Temps de développement : Période			0,62	1	0,43
Longévité adulte : Période	-	-	-	-	-

(B) Taux de croissance

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.l.	p
Taux de croissance	102,7	29,1	8,48	1	0,004
Masse avant reproduction	-	-	-	-	-
Période de reproduction (Tardive)	37	27,8	137	1	< 0,0001
Longévité adulte	2,03	0,58	12,34	1	0,0004
Taux de croissance : Période			4,03	1	0,045
Longévité adulte : Période	-	-	-	-	-

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

(A)



(B)

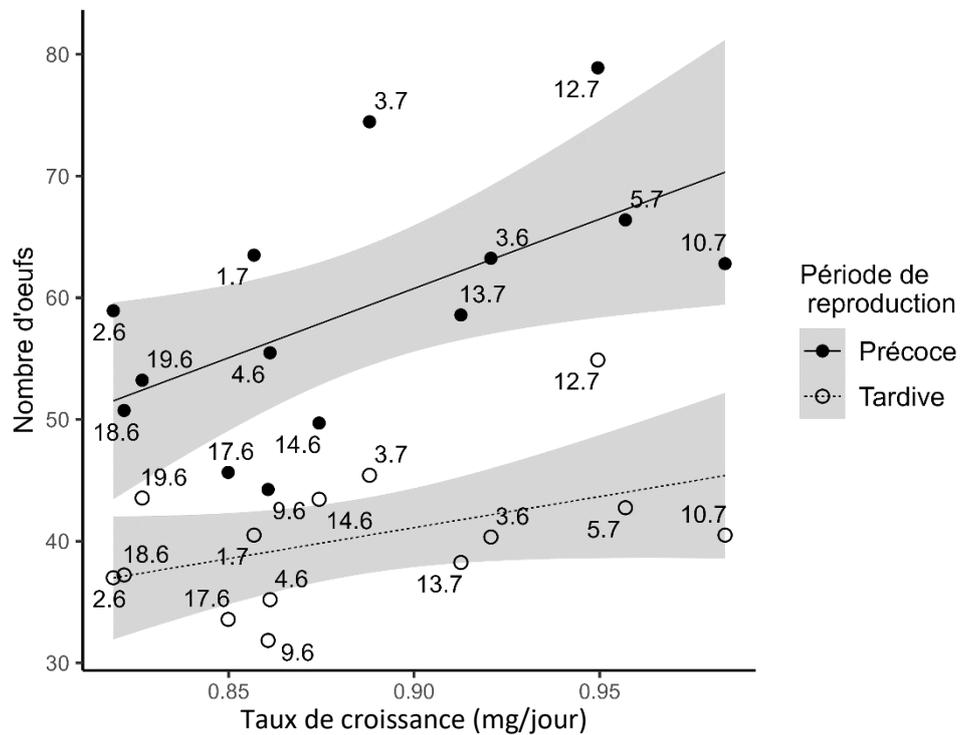


Figure P2.13 : Nombre d'œufs moyen pondus par les femelles *T. molitor* des différentes lignées consanguines lors des périodes de reproduction précoce et tardive en fonction (A) du temps de développement larvaire moyen par lignée et (B) du taux de croissance larvaire moyen par lignée. N = 14 lignées consanguines avec deux points (période de reproduction précoce et période tardive) par lignée. Les droites sont des droites de régressions linéaires avec leurs intervalles de confiance à 95%.

Comme précédemment, les femelles les plus longévives et celles ayant la masse la plus grande avant les périodes de reproduction pondent davantage d'œufs (Figure P2.14).

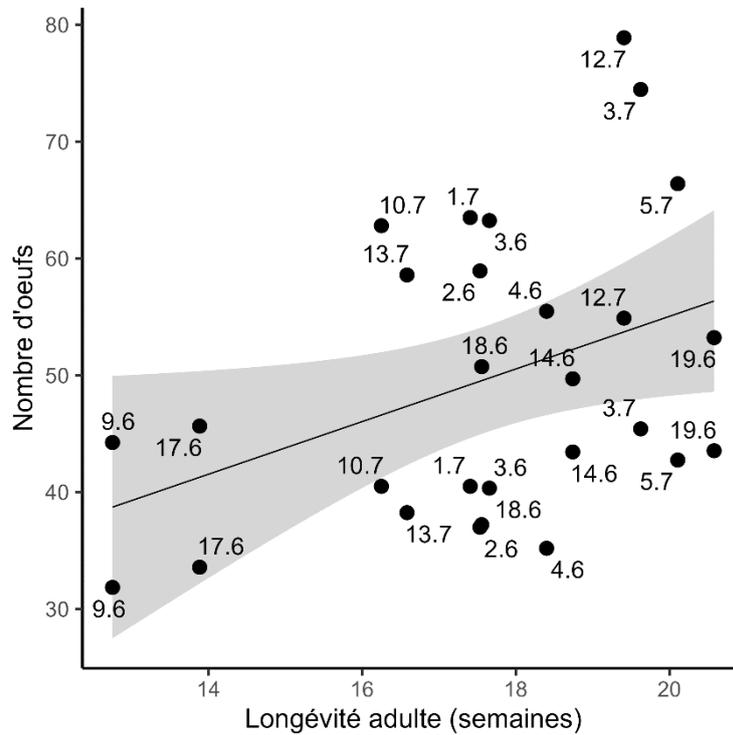


Figure P2.14 : Nombre d'œufs moyen pondus par les femelles *T. molitor* des lignées consanguines lors des périodes de reproduction précoce et tardive en fonction de leur longévité adulte moyenne. N = 14 lignées consanguines avec deux points (période de reproduction précoce et période tardive) par lignée. La droite est une droite de régression linéaire avec son intervalle de confiance à 95%.

C – Sénescence actuarielle et variation du développement

1 – Effet du développement et de la croissance sur la longévité

Quand les *T. molitor* issus des lignées consanguines sont considérés individuellement, le temps de développement a, contrairement à mes hypothèses, un effet négatif sur la longévité (Tableau P2.6 A, Figure P2.15 A). De même, les *T. molitor* qui ayant montré le plus fort taux de croissance sont ceux qui ont vécu les plus vieux lors de leur phase adulte (Tableau P2.6 B, Figure P2.15 B). D'après l'analyse incluant le temps de développement (Tableau P2.6 A), les individus avec la plus grande masse en fin de phase larvaire (masse nymphale) ont vécu plus longtemps. Le sexe, bien que retenu dans les modèles, n'a pas d'effet sur la longévité.

Tableau P2.6 : Analyse de la longévité des *T. molitor* issus de 14 lignées consanguines via des modèles linéaires avec comme mesure du développement/croissance larvaire (A) le temps de développement et (B) le taux de croissance. La régression intégrait un effet aléatoire de la lignée et de l'identité des parents. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ».

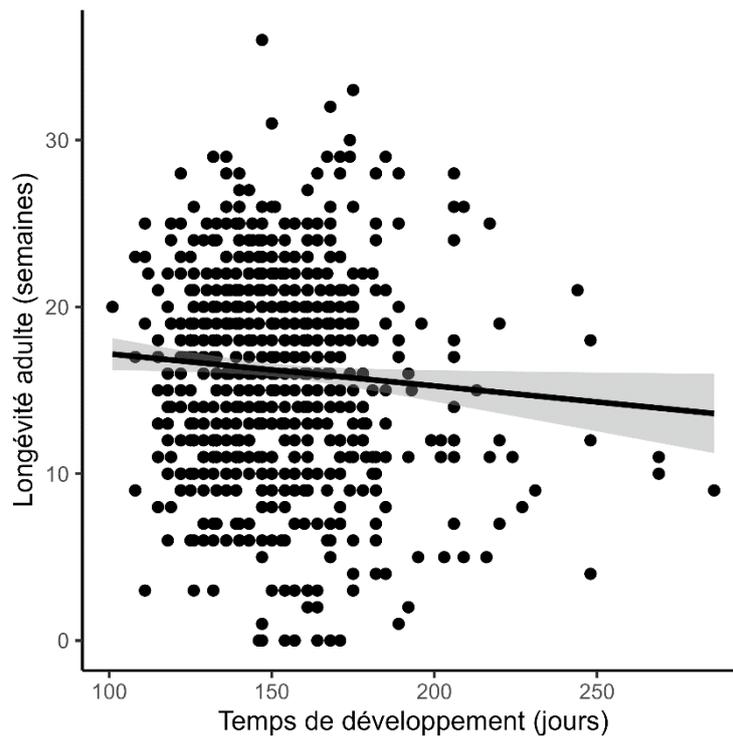
(A) Temps de développement

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.l.	p
Temps de développement	-0,025	0,009	7,6	1	0,006
Masse nymphale	0,03	0,011	7,73	1	0,005
Sexe	-0,38	0,36	1,08	1	0,298

(B) Taux de croissance

Variables	Coefficient	e.s.	Wald χ^2	d.l.	p
Taux de croissance	4,64	1,44	10,42	1	0,001
Masse nymphale	-	-	-	-	-
Sexe	-0,38	0,36	1,07	1	0,302

(A)



(B)

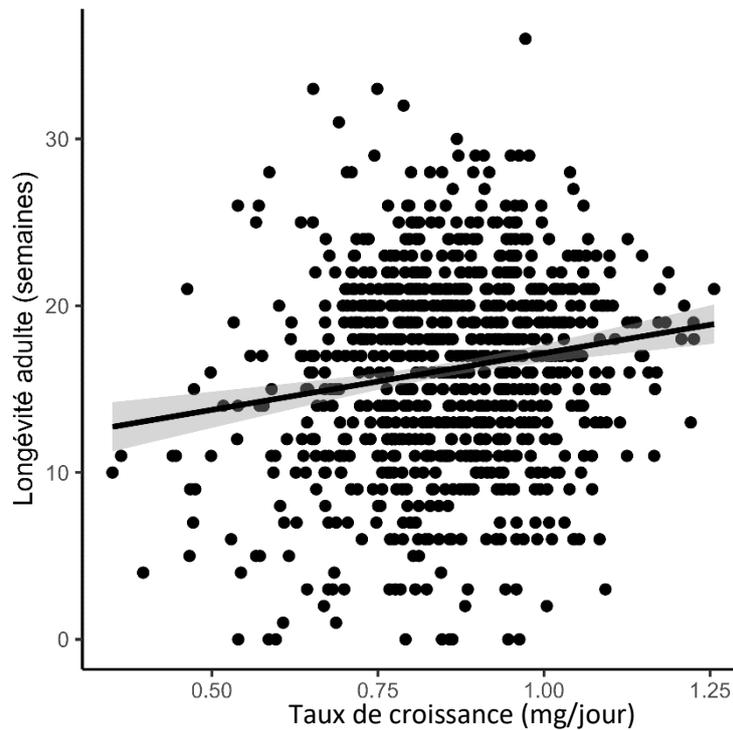


Figure P2.15 : Longévité lors de la phase adulte des *T. molitor* des 14 lignées consanguines en fonction (A) de leur temps de développement larvaire ; (B) de leur taux de croissance larvaire. Les droites sont des droites de régressions linéaires avec leurs intervalles de confiance à 95%.

Quand les lignées étaient considérées par leurs moyennes, une relation quadratique a été établies avec le temps de développement (Tableau P2.7 et Figure P2.16). Il semble y avoir un optimum pour des valeurs de temps de développement à environ 155 jours (Figure P2.16). Aucune relation n’a pu être établie avec le taux de croissance ou masse nymphale quand les moyennes par lignée étaient considérées. La masse nymphale n’avait pas non plus d’effet sur la longévité des lignées (Tableau P2.7).

Tableau P2.7 : Analyse de la longévité des lignées de *T. molitor* via des modèles linéaires avec comme mesure du développement/croissance larvaire le temps de développement moyen par lignée. Le modèle le plus complexe lors de la sélection comprenait toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ».

Variabes	Coefficient	e.s.	F	d.l.	p
Temps de développement	6,00	1,9	9,45	1	0,011
Temps de développement ²	-0,02	0,006	-9,43	1	0,011
Masse nymphale	-	-	-	-	-

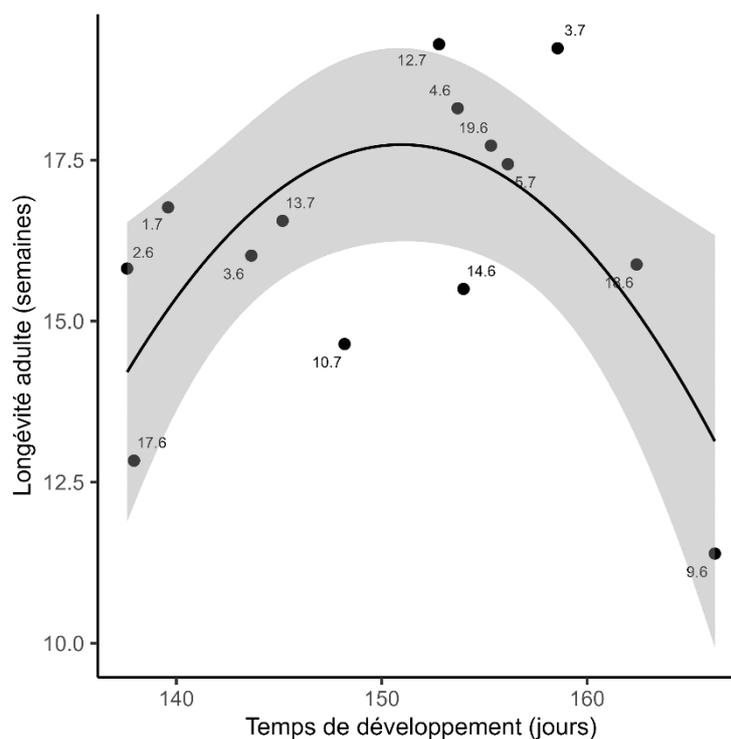


Figure P2.16 : Longévité lors de la phase adulte des lignées *T. molitor* considérées via leurs moyennes en fonction de leur temps de développement larvaire. La courbe représente la relation quadratique avec son intervalle de confiance à 95%.

2 – Effet du développement et de la croissance sur les probabilités de survie

D’après les régressions de Cox (Tableaux P2.8) et contrairement à mes hypothèses, un temps de développement long et un taux de croissance faible s’accompagnent de probabilité de survie plus faible avec l’âge. En effet, le rapport des risques pour le temps de développement

est supérieur à 1, indiquant un effet délétère quand le temps de développement augmente et celui du taux de croissance est très inférieur à 1, indiquant un effet protecteur d'une croissance rapide. Il est cependant notable que l'effet de ces variables est aussi dépendant du temps et que dans les deux cas, l'effet s'amenuise au cours de la vie des individus (Tableaux P2.8). Cela pourrait être un effet dû à la disparition sélective en fin de vie. En effet, les individus qui vivent les plus vieux sont très certainement les plus qualitatifs sur différents traits de vie. Nous pouvons donc penser que ces individus de « bonne qualité », peu importe leur temps ou leur vitesse de développement/croissance, vivent plus vieux. Le fait que la taille des individus, approchée ici par la longueur des élytres, ait un effet protecteur (significatif dans le cas du modèle incluant le temps de développement, Tableau P2.8 A et tendanciel dans celle incluant le taux de croissance, Tableau P2.8 B) pourrait aller dans ce sens. Comme pour le développement et la croissance, cet effet s'amenuise avec le temps.

Tableau P2.8 : Analyse des survies des *T. molitor* issus de 14 lignées consanguines via des régressions de Cox avec comme mesure du développement larvaire (A) le temps de développement et (B) le taux de croissance. La régression intégrait un effet aléatoire de la lignée et de l'identité des parents. Les modèles les plus complexes lors de la sélection comprenaient toutes les variables indiquées dans la colonne « Variables ». Une dépendance au temps a dû être introduite dans les modèles afin de compenser une transgression de l'hypothèse de proportionnalité inhérente aux régressions de Cox. Les meilleurs modèles non retenus sont disponibles en Annexe 1 – Tableaux A.42 et A.43. β est le coefficient de régression de la variable et e.s., son erreur standard. $e(\beta)$ correspond au ratio de risque de la variable. Si ce ratio est significatif sa comparaison à 1 indique si la variable est protectrice ou délétère pour la survie ($e(\beta) < 1$: effet protecteur ; $e(\beta) > 1$: effet délétère). La significativité, indiqué par la valeur p, est calculée à partir de la statistique de Wald. Les $e(\beta)$ statistiquement significatifs et leur p ($p < 0,05$) sont en gras.

(A) Temps de développement

Variables	β	e.s.	$e(\beta)$	Wald	p
Temps de développement	0,035	0,008	1,036	4,26	< 0,0001
Longueur des élytres	-2,072	0,448	0,126	-4,63	< 0,0001
Sexe (Mâle vs Femelle)	-0,271	0,513	0,763	-0,53	0,6
Temps de développement : Temps	-0,012	0,003	0,988	-3,99	0,0001
Longueur des élytres : Temps	0,631	0,164	1,88	3,85	0,0001
Sexe : Temps	0,125	0,183	1,133	0,68	0,49

(B) Taux de croissance

Variable	β	e.s.	$e(\beta)$	Wald	p
Taux de croissance	-5,93	2,125	0,003	-2,79	0,005
Longueur des élytres	-1,028	0,553	0,358	-1,86	0,063
Sexe (Mâle vs Femelle)	-0,134	0,509	0,875	-0,26	0,79
Taux de croissance : Temps	2,346	0,759	10,443	3,09	0,002
Longueur des élytres : Temps	0,223	0,197	1,25	1,13	0,26
Sexe : Temps	0,078	0,181	1,08	0,43	0,67

Enfin, le sexe n'a pas eu d'effet sur les probabilités de survie, comme nous l'avions déjà vu dans la sous-partie A sur les traits d'histoire de vie des lignées.

2 – Paramètres de sénescence actuarielle à partir des mortalités âge-spécifiques

a – Détermination du coefficient b , de l'indice ω et du seuil de début de sénescence actuarielle

A partir des profils de mortalités âge-spécifiques par lignée, plusieurs paramètres ont été déterminés, dont certains liés directement à la sénescence actuarielle. Dans un premier temps, des modèles de Gompertz ont été adaptés sur ces données. Le modèle de Gompertz comprend deux coefficients : a , lié à la mortalité intrinsèque globale donc non directement lié à la sénescence, et b , le coefficient de sénescence qui fait accélérer exponentiellement l'augmentation de mortalité avec l'âge. Ces coefficients sont connus pour être anti-corrélés. En effet, une mortalité intrinsèque haute peut « masquer » la sénescence actuarielle puisque l'accélération sera moins forte. Ainsi, pour avoir une meilleure idée de la sénescence actuarielle avec le modèle de Gompertz, il est possible de calculer le taux de sénescence, ω , à partir de a et b . Le coefficient b et le taux ω donnent une indication de la force de la sénescence, mais l'âge à partir duquel la sénescence actuarielle commence nous intéresse également, appelé ici seuil de sénescence. Pour cela, le point d'inflexion des modèles de Gompertz des 14 lignées consanguines a été déterminé.

Les fonctions de Gompertz s'adaptent plutôt bien aux mortalités âge-spécifiques des 14 lignées (Figure P2.17). Les lignées ne présentent pas toutes le même profil de mortalité. En effet, des lignées comme 5.7, 13.7 ou 14.6 présentent une mortalité accélérant peu avec l'âge mais assez élevée dès le début de la vie d'adulte. Les autres lignées présentent une rupture plus claire, avec une faible mortalité précoce, puis une accélération brusque et tardive, caractérisée par un b plus grand. L'exemple le plus extrême de cette tendance est la lignée 18.6.

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

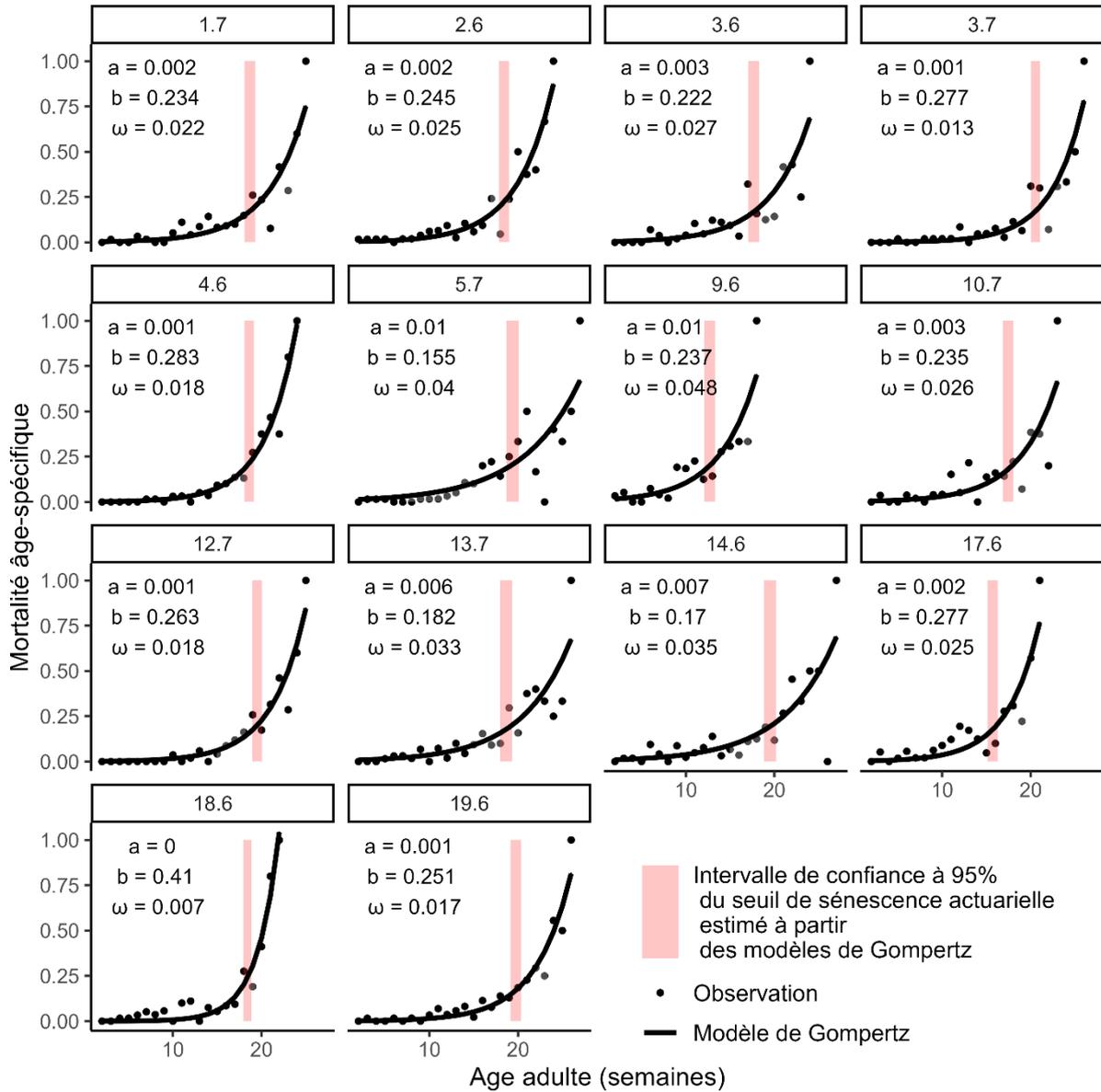


Figure P2.17 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalité âge-spécifiques des *T. molitor* issus de 14 lignées consanguines. Les 5% d'individus les plus longévifs pour chaque lignée ont été retirés avant de calculer les mortalités âge-spécifiques. b est le coefficient de Gompertz associé à la sénescence actuarielle. ω est l'indice de sénescence actuarielle calculé à partir des deux paramètres du modèle de Gompertz. Le dernier paramètre de sénescence actuarielle est le seuil à partir duquel elle commence. Les a , b et ω ont été arrondi à 10^{-3} . Nous avons déterminé ce seuil à partir des prédictions du modèle de Gompertz (en rouge). Les valeurs de b , ω et des seuils pour les lignées consanguines ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% sont disponibles en Annexe 4 – Tableau A.47.

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

b – Mise en relation des paramètres de sénescence actuarielle avec le temps de développement et le taux de croissance

Afin de déterminer si le temps de développement et/ou le taux de croissance ont une influence sur les paramètres de sénescence actuarielle déterminés précédemment, des régressions quadratiques du temps de développement ou du taux de croissance et des régressions simples, au vu des graphiques obtenus, ont été effectuées. Elles ont ensuite été comparées entre elles et au modèle nul.

Le taux de croissance et son carré ont un effet significatif sur le coefficient de sénescence actuarielle b (modèle : R^2 ajusté = 0,295, $F = 3,72$, d.l = 11, $p = 0,058$; taux de croissance : $t = -2,24$, d.l = 1, $p = 0,047$; taux de croissance² : $t = 2,20$, d.l = 1, $p = 0,050$) (Figure P2.18 B). Il semble exister un optimum pour le taux de croissance vis-à-vis de b à environ 0,89 mg/jour. Le temps de développement n'a pas de relation significative avec le coefficient de sénescence des lignées consanguines (Figure P2.18 A).

Contrairement aux attendus, le taux de sénescence actuarielle, ω , des lignées consanguines ne semble dépendre ni du temps de développement, ni du taux de croissance (Figures P2.18 C et D).

Le modèle quadratique pour le seuil de sénescence actuarielle intégrant le temps de développement est significatif (modèle : R^2 ajusté = 0,495, $F = 7,37$, d.l = 11, $p = 0,009$; temps de développement : $t = 3,80$, d.l = 1, $p = 0,003$; temps de développement² : $t = -3,81$, d.l = 1, $p = 0,003$) (Figure P2.18 E). Ainsi, les lignées avec un temps de développement d'environ 155 jours semblent démarrer leur sénescence actuarielle plus tardivement que les lignées caractérisées par des temps de développement plus rapides ou plus lents.

Enfin, aucun des modèles testés n'est meilleur que le modèle nul quand la relation entre le taux de croissance et le seuil de sénescence actuarielle est considérée (Figure P2.18 F).

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

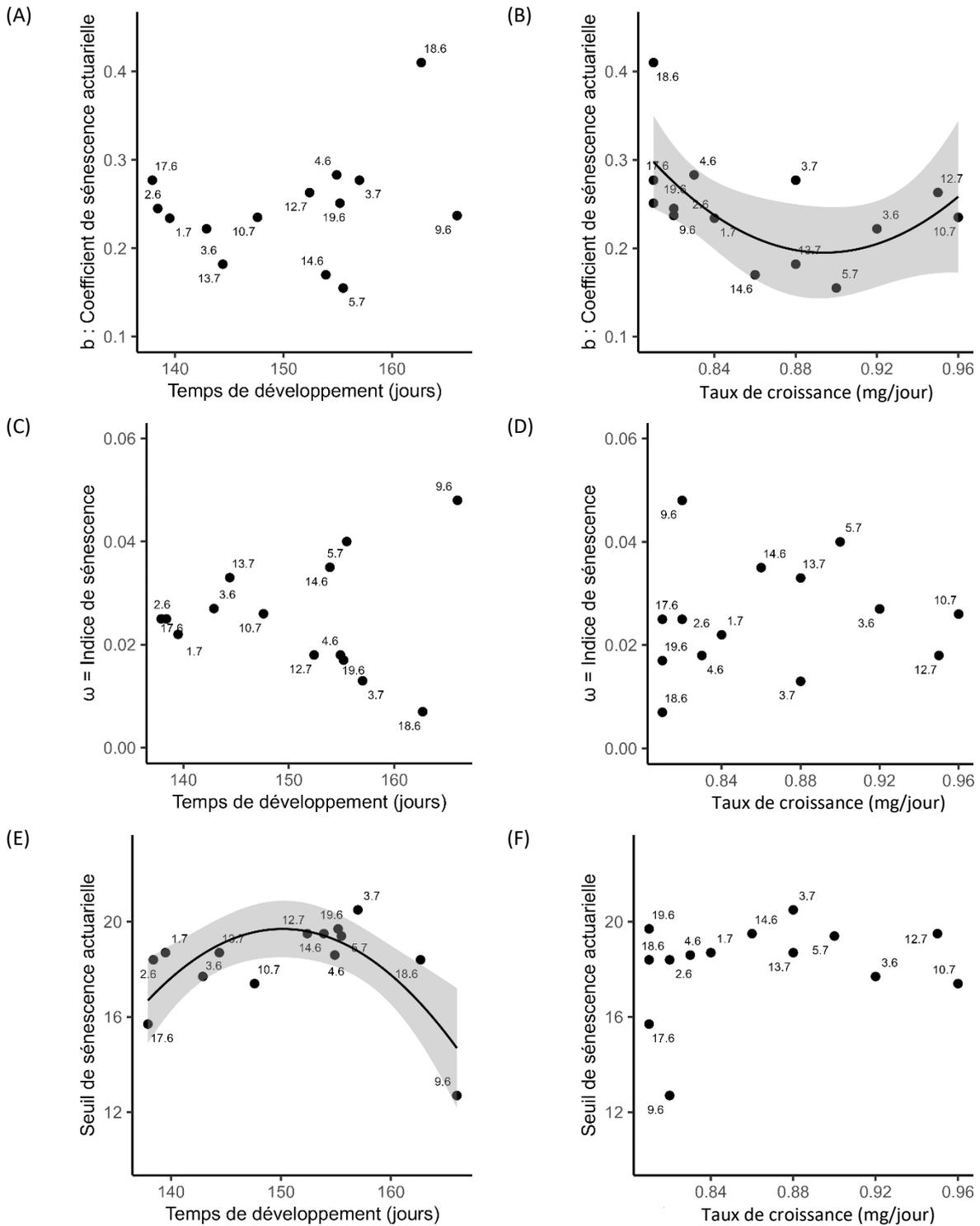


Figure P2.18 : Mise en relation des paramètres de sénescence actuarielle avec le temps de développement larvaire moyen par lignée ((A), (C) et (E)) et avec le taux de croissance larvaire moyen par lignée ((B), (D) et (F)). Chaque point correspond à l'une des 14 lignées consanguines de *T. molitor*, la lignée étant indiquée au-dessus du point. Les lignes noires correspondent à la relation entre le paramètre de sénescence actuarielle et le Temps ou le taux de développement quand une relation statistiquement significative a pu être trouvée et leurs intervalles de confiance à 95%. Les modèles testés et leur AIC sont disponibles en Annexe 1 – Tableau A.44. Un tableau contenant les valeurs de b , ω et le seuil de sénescence actuarielle associées aux temps de développement et taux de croissance larvaire moyens par lignée consanguine ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% sont disponible en Annexe 4 – Tableau A.47.

D – Héritabilité et corrélations génétiques des traits d’histoire de vie des lignées consanguines de *Tenebrio molitor*

À partir de la variabilité au sein des lignées consanguines et entre les lignées consanguines, l’héritabilité au sens large, H^2 , a été évaluée pour plusieurs traits d’histoire de vie (Tableau P2.9).

D’après les calculs, seuls les traits relatifs au développement (temps et taux) et ceux relatif au gabarit des individus (masse nymphale et longueur des élytres) étaient héritable (Tableau P2.9). Ces deux derniers notamment semblent très héritable puisque $72 \pm 27\%$ de la masse nymphale et $91 \pm 31\%$ de la longueur des élytres seraient déterminées par la lignée, et donc la génétique.

Tableau P2.9 : Héritabilités au sens large H^2 estimées pour différents traits d’histoire de vie des femelles *T. molitor* issues de 14 lignées consanguines. Les héritabilités dont la valeur est significativement différente de 0 sont en gras. Les variances inter-lignée (V_{inter}) et intra-lignée (V_{intra}) et le coefficient de corrélation intra-lignées (t) sont les éléments du calcul de H^2

Trait d'histoire de vie	V_{inter}	V_{intra}	$t \pm e.s.$	$H^2 \pm e.s.$
Temps de développement	22269,94	79529	$0,17 \pm 0,07$	$0,38 \pm 0,17$
Masse nymphale	31161,43	60690,55	$0,31 \pm 0,1$	$0,72 \pm 0,27$
Taux de croissance	0,91	3,46	$0,16 \pm 0,07$	$0,35 \pm 0,17$
Longévité adulte	926,52	4992,56	$0,1 \pm 0,06$	$0,22 \pm 0,12$
Longueur des élytres	27,11	41,22	$0,37 \pm 0,1$	$0,91 \pm 0,31$
Nombre d'œufs précoce	25363,75	129388,11	$0,11 \pm 0,06$	$0,23 \pm 0,13$
Nombre d'œufs tardif	5149,43	79461,56	$-0,01 \pm 0,02$	$-0,01 \pm 0,04$
Fécondité totale	45560,49	262305,78	$0,09 \pm 0,05$	$0,19 \pm 0,12$
Indice de sénescence reproductive	1,5	24,74	$-0,01 \pm 0,02$	$-0,02 \pm 0,04$

Pour établir les corrélations génétiques, nous avons également ajouté les paramètres de sénescence actuarielle par lignées calculés précédemment (Tableau P2.10).

Partie 2 : Lignées consanguines, développement, croissance et sénescence

Tableau P2.10 : Corrélations génétiques estimées. La partie inférieure de la matrice contient les valeurs de coefficients de corrélation. Les coefficients statistiquement significatifs sont en gras et pour plus de visibilité, marqué d'une *. La partie supérieure de la matrice contient les erreurs standard des coefficients de corrélation.

	Temps de développement	Masse nymphale	Taux de croissance	Longévité adulte	Longueur des élytres	Nombre d'œufs précoce	Nombre d'œufs tardif	Fécondité totale	Indice de sénescence reproductive	b	ω	Seuil de sénescence
Temps de développement		0,05	0,11	0,12	0,03	0,11	0,03	0,09	0,1	0,19	0,09	0,17
Masse nymphale	0,62*		0,01	0,11	0	0,08	0,03	0,06	0,09	0,04	0,04	0,13
Taux de croissance	-0,17	0,7*		0,06	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,06	0,06	0,03
Longévité adulte	0,2	0,06	-0,14*		0,12	0,04	0,03	0,03	0,1	0,04	0,22	0,01
Longueur des élytres	0,75*	0,95*	0,5*	0,19		0,1	0,02	0,07	0,16	0,07	0,04	0,14
Nombre d'œufs précoce	-0,06	0,39*	0,51*	0,41*	0,29*		0,11	0	0,03	0,16	0,1	0,03
Nombre d'œufs tardif	0,23*	0,51*	0,4*	0,44*	0,45*	0,78*		0,05	0,08	0,06	0,08	0,02
Fécondité totale	0,06	0,47*	0,5*	0,45*	0,38*	0,97*	0,94*		0,05	0,13	0,09	0,02
Indice de sénescence reproductive	0,34*	-0,07	-0,41*	-0,08	0,07	-0,71*	-0,03	-0,49*		0,23	0,08	0,1
b	0,35	-0,22*	-0,52*	-0,08*	-0,16*	-0,16	-0,09	-0,15	0,03		0,03	0,03
ω	-0,17	0,2*	0,36*	-0,57*	0,16*	-0,32*	-0,28*	-0,32*	0,25*	-0,73*		0,19
Seuil de sénescence	0,13	0,08	-0,04	0,97*	0,17	0,46*	0,47*	0,49*	-0,17	-0,01	-0,7*	

Nous constatons une corrélation génétique positive entre la durée du développement et l'indice de sénescence reproductive. Cela va dans le sens de l'hypothèse selon laquelle une sénescence moins prononcée est associée à un développement plus long. De même, un taux de croissance important, donc un investissement important dans la croissance, est lié à

davantage de sénescence reproductive²¹. Ces résultats concordent non seulement avec mes hypothèses mais surtout avec les résultats obtenus dans la sous-partie traitant de la sénescence reproductive des lignées consanguines (Partie 2 – III – B).

En examinant de près les corrélations génétiques liées au gabarit des individus et à leur reproduction, le nombre d'œufs pondus, que l'on sépare ou non les périodes de reproduction (fécondité précoce, fécondité tardive et fécondité totale), est positivement associé à la taille ou à la masse. Cela confirme également les observations précédentes : les femelles les plus grandes ou plus lourdes sont celles qui produisent le plus d'œufs, et ces relations sont donc génétiquement déterminées. Cependant, la sénescence reproductive ne semble pas liée à la masse nymphale ou à la longueur des élytres. L'indice de sénescence reproductive est, comme nous l'avons constaté lors des analyses précédentes, lié au nombre d'œufs produits lors de la période de reproduction précoce ($r = -0,71$) et à la fécondité totale ($r = -0,49$), mais pas à celle de la période tardive. Nous pouvons également noter que le taux de croissance est positivement corrélé à la fécondité (précoce, tardive et totale). Cependant, la masse et le taux de croissance sont également positivement liés (ce qui est logique puisque le taux de croissance est le rapport entre la masse nymphale et le temps de développement). Le lien positif entre le taux de croissance et la fécondité pourrait simplement être médié par la masse nymphale.

Si nous nous intéressons aux corrélations incluant des variables relatives à la survie et à la sénescence actuarielle, nous remarquons que le temps de développement n'est génétiquement lié ni à la longévité adulte, ni au coefficient de sénescence b , ni au taux de sénescence ω , ni au seuil de sénescence actuarielle. En revanche, le taux de croissance est lié à ces variables, à l'exception du seuil d'initiation de la sénescence. En effet, les lignées au taux de croissance le plus intense vivent moins longtemps et présentent un ω plus grand, comme attendu. En revanche, leur coefficient de sénescence actuarielle est plus faible. En complément, et ce résultat est logique, les lignées les plus longévives sont celles avec les coefficients b et ω les plus faibles, et avec les seuils d'initiation de la sénescence les plus tardifs.

²¹ L'indice de sénescence reproductive est construit de telle manière que plus la sénescence est grande, plus l'indice est petit.

Si l'on s'intéresse enfin aux liens entre les deux types de sénescence, reproductive et actuarielle, on observe qu'il n'y a pas de lien génétique direct entre la longévité et l'indice de sénescence reproductive. En revanche, ce dernier est positivement lié au taux de sénescence actuarielle ω . Comme l'indice de sénescence est calculé de manière à ce que sa diminution corresponde à une augmentation de la force de la sénescence, cette relation pourrait suggérer l'existence d'un compromis entre la reproduction et la survie tard dans la vie. Cependant, ce compromis ne devient pas évident lorsqu'on examine la fécondité à différents âges. Les variables de fécondité (précoce, tardive et totale) sont négativement liées au taux de sénescence actuarielle et positivement au seuil de sénescence. Ainsi, les lignées qui pondent le plus d'œufs sont celles qui ont la sénescence actuarielle la plus faible et qui commence plus tardivement. Ces résultats suggèrent plutôt des différences de qualité entre les lignées plutôt qu'un compromis entre survie et reproduction.

IV – Discussion

A – Les lignées consanguines de *T. molitor* présentent des valeurs de traits d'histoire de vie différentes, et certaines souffrent de la consanguinité à divers niveaux

Les 17 lignées consanguines ont des temps de développement et des taux de croissance différents. Ceci nous a donc permis de tester nos hypothèses.

Cependant, les lignées diffèrent également sur d'autres caractéristiques. Elles ne présentent pas toutes la même taille moyenne une fois adulte et ni la même masse nymphale, ce qui constitue un potentiel biais étant donné que la masse en début de vie adulte est un prédicteur des performances futures chez les insectes (Arrese et Soulages, 2010; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019). Néanmoins, certaines lignées semblent ne pas tirer pleinement profit de leur temps de développement long, car elles n'atteignent pas une masse nymphale aussi importante que d'autres lignées avec des temps de développement similaires. Cela pourrait traduire un investissement moindre dans la croissance, ce qui aurait pu être intéressant pour la présente étude, car cela nous aurait permis d'avoir des temps de développement similaires avec des taux de croissance différents, nous permettant de dichotomiser efficacement leur

effet, ce qui est rarement possible (Lind *et al.*, 2016). Cependant, parmi les lignées, trois d'entre elles (les lignées 5.6, 6.6 et 7.6), ont également présenté des longévités et des fécondités totales moyennes, composantes directes de la fitness, plus faibles que les autres lignées. Une même déficience a été constatée pour tous les autres traits mesurés. Ceci suggère que les lignées ne sont pas toutes affectées de la même manière par la consanguinité. Par le hasard des croisements frère-sœur, certaines lignées pourraient avoir accumulé fardeau génétique (mutations délétères) plus important. Le fait que parmi les vingt lignées consanguines initialement constituées, cinq d'entre elles se soient éteintes semble également aller dans ce sens. En effet, ces lignées se sont certainement éteintes parce qu'à l'occasion de certains croisements frère-sœur, aucun descendant viable n'a pu être obtenu. La lignée 6.6, pour laquelle nous avons obtenu un faible nombre de larves expérimentales et qui, en outre, montre des anomalies physiques, semble être une lignée qui a échappé de justesse à une extinction. Les différences en termes d'ampleur de la dépression de consanguinité constituent un biais inhérent aux études utilisant des lignées consanguines (Letendre *et al.*, 2022), que nous avons cependant tenté de réduire en retirant des analyses les lignées qui nous semblaient exprimer des traits de vie très en dessous des autres.

B – La sénescence reproductive des femelles de *T. molitor* issues des lignées consanguines dépend de leur temps de développement et de leur taux de croissance

1 – Une sénescence reproductive accrue survient lorsque le temps de développement diminue et/ou quand le taux de croissance augmente ...

Dans un premier temps, le nombre d'œufs pondus par les femelles a diminué entre la période de reproduction précoce et la période de reproduction tardive, marquant ainsi une sénescence reproductive, comme prévu compte tenu du choix des âges choisis pour les périodes des reproductions (Dick, 1937 ; Drnevich *et al.*, 2001 ; Jehan *et al.*, 2020).

La baisse de la performance reproductive entre les périodes précoce et tardives était plus faible lorsque le temps de développement augmentait et plus forte quand le taux de croissance augmentait. Cette observation est cohérente avec les théories de la sénescence qui opposent les performances précoces et tardives (Medawar, 1952 ; Williams, 1957 ; Kirkwood

et Austad, 2000). Selon la théorie du soma jetable (Kirkwood, 1977 ; Kirkwood et Holliday, 1979 ; Kirkwood et Austad, 2000), cette opposition serait soutenue par un compromis d'allocation de ressources entre la croissance et le maintien de l'organisme. Ainsi, lorsque davantage de ressources sont investies dans le développement, celui-ci peut se faire plus rapidement. De la même manière, un investissement plus important dans la croissance aboutit à une prise de masse par unité de temps plus élevée, mais cela pourrait se payer plus tard par la production d'un organisme possédant des structures « bâclées » (Metcalf et Monaghan, 2003). Cette faiblesse proviendrait d'un défaut d'investissement dans les fonctions de réparation au profit du taux de croissance élevé (Kirkwood et Austad, 2000). De plus, si cette répartition d'investissement au détriment du maintien de l'organisme et au profit des performances précoces se poursuit après la croissance, comme par exemple dans la reproduction, les dommages non réparés peuvent s'accumuler et mener au déclin plus rapide de l'organisme (Kirkwood et Austad, 2000). Ce déclin finirait par se traduire par une baisse de la fécondité, c'est-à-dire, la sénescence reproductive.

Cette association négative entre vitesse de développement/croissance (les études les différenciant rarement) et les performances adultes tardives a déjà été trouvée chez des lignées de *D. melanogaster* constituées par une mortalité extrinsèque plus ou moins grande à l'âge adulte (Stearns *et al.*, 2000). Au fil des générations dans cette expérience d'évolution expérimentale, les lignées qui ont subi une mortalité extrinsèque plus importante à l'âge adulte ont évolué des performances précoces plus importantes, notamment des temps de développement plus court, qui étaient accompagnées de performances tardives amoindries, en particulier une longévité réduite et une fécondité plus faible (Stearns *et al.*, 2000). Cette relation a également été observée dans l'étude de Dudycha et Tessier (1999) sur le complexe d'espèce *D. culex-pulicaria*, où le temps de développement a été modifié par l'exposition sur plusieurs générations à des hydropériodes plus ou moins stables. Les populations ayant subi des hydropériodes incertaines ont présenté un développement plus rapide accompagné d'une diminution précoce et rapide de la fécondité par rapport aux populations des zones plus stables (Dudycha et Tessier, 1999).

2 – ... due à un surinvestissement des femelles « rapides » dans la reproduction précoce ...

Si la sénescence reproductive augmente davantage quand les femelles se développent rapidement, l'analyse des nombres d'œufs pondus entre chaque période de reproduction offre plus de détails sur les variations des patrons de fécondité. En effet, la plus grande sénescence reproductive des femelles à développement/croissance rapide ne provient pas d'une performance tardive plus faible par rapport à celle de leurs congénères plus lentes, mais d'une fécondité précoce plus forte. Ainsi, plus le temps de développement est court, ou le taux de croissance élevé, et plus le nombre d'œufs pondus lors de la première période de reproduction est important. Le nombre d'œufs pondus lors de la période de reproduction tardive n'est, quant à lui, pas influencé par le temps de développement ou le taux de croissance.

En se basant sur ces deux périodes de reproduction, il semble donc que les femelles ne paient pas vraiment de coût pour leur temps de développement plus court ou pour leur taux de croissance plus élevé en termes de fécondité tardive, puisqu'elles font globalement, plus d'œufs. Ce résultat semble aller à l'encontre des hypothèses issues de la théorie du soma jetable et les théories opposant performances précoces et tardives. En effet, un développement court devrait aboutir à un organisme plus fragile car affligé d'erreurs (Metcalf et Monaghan, 2003). De plus, un développement court et une croissance élevée devraient provoquer un sous-investissement dans le maintien de l'organisme, et donc la non correction de ces erreurs et des dommages qui, par conséquent, s'accumuleraient et aboutiraient au déclin de l'organisme (Kirkwood, 1977 ; Kirkwood et Holliday, 1979). Cela devrait être accompagné d'un coût sous la forme d'une fécondité tardive plus faible, comme c'est par exemple le cas dans l'étude de Green et Rothstein (1991) sur le bison, où une relation négative entre vitesse de croissance et sénescence reproductive est présentée. De plus, les femelles qui grandissent le plus vite présentent un pic de fécondité précoce, or, la relation négative entre fécondité précoce et performance tardive est à la base de la théorie du soma jetable et est documentée, par exemple, dans la revue sur le compromis entre performances précoces et tardives chez les vertébrés en milieu naturel de Lemaître *et al.* (2015), avec le cerf élaphe en particulier.

Ce bonus de fécondité précoce accompagnant une vitesse de développement/croissance plus grande, et qui n'est pas suivi par un malus sur la fécondité tardive pourrait venir du fait que la seconde période de reproduction, que nous avons choisi comme tardive, ne l'était pas assez eu égard à la longévité de *T. molitor*. Les patrons de mortalités âge-spécifiques (Figure P2.16) montrent que la mortalité ne semble commencer à augmenter qu'entre la 10^{ème} et la 12^{ème} semaine post-émergence, si on excepte la lignée 9.6 (lignée assez proche pour plusieurs traits d'histoire de vie, notamment la longévité, des trois lignées retirées des analyses). Ce patron de mortalité, un peu différent de celui observé par Jehan *et al.* (2020) car plus tardif, nous donnerait la possibilité d'étudier une troisième période de reproduction, plus tardive. Il est en effet, possible que le coût de la croissance ou du développement rapide ne se manifeste que plus tardivement que ce que nous avons mesuré. Par exemple, dans l'étude de Jehan *et al.* (2020), où le suivi s'est effectué sur 11 semaines, la sénescence reproductive *T. molitor* était étudiée selon l'effort reproductif fourni, modifié par différent sex-ratio. Les femelles des différentes conditions présentaient des trajectoires variables de fertilité. Les femelles d'un des groupes, celui avec le sex-ratio équilibré, montraient un pic de fertilité précoce plus fort, mais qui diminuait plus rapidement. Néanmoins, leur fertilité ne croisait la trajectoire de sénescence reproductive des autres conditions qu'à partir de la 6^{ème} semaine post-émergence (soit environ l'âge de la seconde période de reproduction considérée ici), la différence continuant à s'accroître un peu à partir de cet âge (Jehan *et al.*, 2020). Néanmoins, si nous souhaitons étudier la reproduction plus tardivement que nous ne l'avons fait ici, le placement d'une troisième période de reproduction encore plus tardive devra être déterminée de manière à ce qu'elle ne corresponde pas aussi à un âge auquel la sénescence actuarielle serait initiée, afin d'éviter la disparition sélective (Vaupel, Manton et Stallard, 1979 ; Nussey *et al.*, 2011).

Il est également possible que l'environnement extrêmement protégé dans lequel les femelles ont été maintenues tout au long de leur vie masque les coûts éventuels associés à d'une grande vitesse de développement/croissance. Comme noté plus haut, nos animaux ont commencé leur sénescence de survie au-delà de la 9^{ème} semaine post-émergence, contrastant avec les 6-7 semaines observées dans l'étude de Jehan *et al.* (2020). La grande différence entre les deux études est que, dans celle de Jehan *et al.* (2020), les animaux étaient maintenus en groupes constituant des petites populations pour lesquelles les conditions de densité étaient

relativement réalistes d'un point de vue écologique. Dans ces conditions, les insectes étaient en situation de compétition pour les ressources (alimentaires et reproductives). Ce n'était pas le cas pour les animaux étudiés dans cette thèse, qui eux étaient maintenus isolés et donc soustraits à toute forme de compétition. Cet isolement pourrait expliquer cette sénescence plus tardive. De plus, la masse atteinte en fin de croissance (c'est-à-dire la masse nymphale, proportionnelle à celle du début de phase adulte), pourrait avoir un rôle protecteur sur la sénescence (Yearsley, Kyriazakis et Gordon, 2004 ; Lindström, Metcalfe et Royle, 2005 ; Mangel et B. Munch, 2005). Chez nos ténébrions, la masse en début de la phase adulte est connue pour être un bon prédicteur des performances des individus (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019). Or, la masse atteinte dépend de la capacité de croissance et est donc liée au taux de croissance. Ainsi, l'isolement de nos femelles leur permettrait d'atteindre une masse importante en début de phase adulte, et leur permettrait en retour d'avoir de meilleures performances reproductives initiales, puis de se maintenir plus tard au même niveau que les femelles à croissance plus lente.

3 - ... et qui pourrait être lié à une plus grande qualité de certaines femelles ou à la stratégie reproductive de l'espèce.

Le nombre d'œufs pondus, quelle que soit la période de reproduction, augmentait avec la masse pré-reproduction des femelles et, surtout, avec leur longévité. Le premier point semble assez logique, car la masse et la fécondité sont connus pour être liées positivement chez les insectes (Honěk, 1993), où les femelles les plus grosses ont davantage de ressources à investir dans les œufs. De plus, nous avons déjà évoqué le fait qu'il pourrait s'agir d'un point crucial dans le maintien des performances reproductives. La capacité à maintenir ou reconstituer ses réserves semblent donc cruciale pour les femelles. La relation positive entre fécondité et longévité adulte est plus étonnante, compte tenu encore une fois des prédictions de la théorie du soma jetable où la reproduction, notamment précoce, et la longévité s'opposent (Kirkwood et Rose, 1991). Ainsi, les femelles les plus longévives ont une fécondité plus importante, ce qui est directement lié à la stratégie reproductive des femelles *T. molitor*: la reproduction restreinte. Les femelles semblent en effet privilégier une reproduction relativement modérée, permettant une longévité plus grande. Comme elles se reproduisent tout au long de leur vie, il devient logique de considérer que la fécondité tout au long de la vie des ténébrions est principalement due à leur longévité (Jehan *et al.*, 2020, 2022). Cette double relation de la

masse et de la longévité avec la fécondité a également été retrouvée lorsque les moyennes par lignée étaient considérées dans nos analyses, plutôt que les données individuelles, ce qui montre que les différences dans ces caractéristiques sont des différences d'ordre génétique. Ce type de corrélation positive entre traits, qui peut sembler contradictoire par rapport aux prédictions des théories de la sénescence, est en fait assez commune (Rose, 1991 ; Maklakov, Rowe et Friberg, 2015). Maklakov et al. (2015) proposent une « théorie de l'accumulation de mutation modifiée » pour expliquer ce genre de pléiotropie positive entre fitness tôt et fitness tard dans la vie. Ces auteurs postulent que des allèles avec un effet délétère très faible tôt dans la vie mais augmentant avec l'âge pourraient se maintenir dans les populations où un âge avancé est rarement atteint. Ainsi, les auteurs prévoient notamment que dans des populations de laboratoire où la mortalité extrinsèque est faible et donc où les individus ont l'occasion de réaliser leur pleine longévité potentielle, ce genre d'allèles serait contre sélectionné.

C – Les *T. molitor* s'étant développés ou ayant grandi le plus rapidement ont plus de chance de vivre plus vieux

Contrairement à la relation prévue par la théorie du soma jetable, la longévité de *T. molitor* et la probabilité de survie adulte diminuent avec la durée de développement et augmentent avec le taux de croissance. Ainsi, les individus ayant investi dans un temps de développement court ou un taux la croissance élevé (importante prise de masse par unité de temps lors de la phase larvaire) ne semblent pas payer de coût en termes de longévité. Bien que la relation négative attendue entre la vitesse de développement/croissance et la longévité ne soit pas toujours trouvée (chez *P. reticulata*, Reznick, Bryga et Endler, 1990 et Reznick *et al.*, 2004 ; chez *D. melanogaster*, Zwaan, Bijlsma et Hoekstra, 1991, 1995) et que la relation inverse soit parfois constatée, comme dans notre cas (chez un autre insecte, *Protopiophila litigata*, Angell *et al.*, 2020), il s'agit pourtant d'une des relations fondamentales des théories de la sénescence. Lints et Soliman (1977) trouvaient également une relation positive entre taux de croissance et longévité chez *T. castaneum*, un autre membre de la famille des Ténébrionides. Angell *et al.* (2020) l'explique par un effet « *silver spoon* » puisque le temps de développement et le taux de croissance des mouches ont été modifiés par l'environnement dans leur étude. Il faut cependant noter que si les mâles qui grandissaient le plus vite vivaient plus vieux une fois le

stade adulte atteint, leur sénescence actuarielle commençait plus tôt. Un effet « *silver spoon* » dû à l'environnement est ici à exclure puisque les *T. molitor* issus des différentes lignées consanguines ont tous grandi et ont ensuite été maintenus dans les mêmes conditions, les conditions standard du laboratoire (dans lesquelles les lignées sont maintenues habituellement). Les meilleurs individus seraient meilleurs en tout. Comme pour l'avantage en termes de reproduction que présentent les femelles à croissance rapide, ce phénomène pourrait être lié à la masse et/ou la taille (les deux étant très liées) atteinte en fin de développement. En effet, l'avantage en termes de réserves que constitue une masse plus importante (Arrese et Soulages, 2010) pourrait compenser les coûts attendus d'une plus grande vitesse de développement/croissance. Le fait que la masse nymphale ait un effet positif sur la longévité et que la taille soit une variable bénéfique dans les modèles de Cox pour la survie au cours de la phase adulte va plutôt dans ce sens. Ici encore, la taille et/ou les réserves en début de vie adulte et, potentiellement, une plus grande capacité à reconstituer ces réserves (si on fait l'hypothèse que les individus capables de croître plus vite au stade larvaire sont aussi capables de stocker davantage de réserves à l'âge adulte), pourrait compenser le coût de la plus grande vitesse de croissance. Néanmoins, cette explication devient moins plausible lorsque l'on raisonne avec le temps de développement. S'il y a un lien entre le temps de développement et la masse, celui-ci devrait être positif : quand le temps de développement est long on devrait atteindre une masse plus grande, puisqu'un temps long favorise la mise en place des structures et tissus permettant d'atteindre le stade reproductif (van der Have et de Jong, 1996). Pour répondre pleinement à cette question, il faudrait réussir à faire varier soit la masse, soit le temps de développement, soit le taux de développement, tout en maintenant au moins un autre de ces paramètres fixe.

Il est possible que le compromis entre développement et maintenance somatique postulé par la théorie du soma jetable ne soit pas la force prépondérante dans la sénescence de *T. molitor*. En effet, les théories de la sénescence et les mécanismes qu'elles supposent ne sont généralement pas exclusives les uns par rapport aux autres (Kirkwood, 2005 ; Blagosklonny, 2012 ; Gems, 2022). Au moins, il ne semble pas possible d'évoquer ici comme explication de cette corrélation positive entre fitness précoce et tardive la théorie de l'accumulation de mutation modifiée proposée par Maklakov et al. (2015). En effet, comme nous l'aborderons plus tard, la corrélation génétique entre le taux de croissance et la longévité est négative, allant

davantage dans le sens d'une pléiotropie antagoniste (Williams, 1957) ou d'un contrôle génétique du compromis (Kirkwood, 1977). De plus, lorsque les lignées étaient considérées par leur moyennes, une augmentation du temps de développement avait un effet protecteur jusqu'à une valeur d'environ 155 jours de développement. Cela pourrait aller dans le sens d'un effet masquant de la masse sur le compromis que nous recherchions.

Il est également possible que le compromis entre développement et maintenance somatique ne puisse être décelé que dans un environnement favorisant les dommages somatiques, telles des conditions stressantes de température ou des infections qui pourraient engendrer du stress oxydatif (Kirkwood, 2005 ; Oliveira, Nogueira-Machado et Chaves, 2010 ; Janssens et Stoks, 2018). Cependant, les insectes utilisés dans cette expérience ont passé toute leur vie isolés (phase larvaire à partir d'un mois, phase nymphale et phase adulte, à l'exception des deux périodes de reproduction où ils étaient avec un congénère du sexe opposé), avaient toujours des conditions de température et d'humidité relative considérées comme optimales (Punzo et Mutchmor, 1980 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018) et de la nourriture *ad libitum*. Ces conditions n'impliquent pas (ou très peu) de stress environnemental (peu de sollicitation du système immunitaire, pas de compétition, pas de blessures par des congénères, pas de période de jeûne, etc.) et sont peu compatibles avec l'écologie de l'espèce.

Le dernier point à noter sur les analyses faites avec des régressions de Cox est que les effets du temps de développement, du taux de croissance et de la taille (seulement dans le modèle avec temps de développement) s'amenuisent avec l'âge. Le bénéfice d'un temps de développement court, d'un taux de croissance élevé et/ou d'une grande taille semble donc limité dans les périodes les plus tardives de la phase adulte.

D – Les patrons de sénescence actuarielle sont très variables selon les lignées, et leur relation avec les vitesses de développement et de croissance n'est pas linéaire

J'ai également examiné l'effet de la vitesse du développement et de la croissance sur la sénescence actuarielle via la modélisation de Gompertz sur les mortalités âge-spécifiques des lignées. Les patrons de sénescences actuarielles des lignées variaient aussi bien au niveau de leur coefficient de sénescence, leur indice de sénescence et du seuil de la sénescence.

Lorsqu'on examine les relations entre ces paramètres de sénescence et le temps de développement ou le taux de croissance, le coefficient de sénescence semble lié au taux de croissance et le seuil de sénescence au temps de développement. Dans les deux cas, les relations ne sont pas linéaires, mais quadratiques.

En effet, jusqu'à un taux de croissance moyen d'environ 0,9 mg/jour, le coefficient de sénescence diminue quand le taux de croissance augmente, allant à l'encontre des hypothèses du soma jetable qui prédit une corrélation positive entre ces deux paramètres. Dans cette gamme de paramètres, plus les lignées ont un fort taux de croissance, plus leur sénescence de survie est faible. Nous trouvons bien une relation positive, mais seulement à partir des taux de croissances les plus forts : au-delà de 0,9 mg/jour. En ce sens, les prédictions du compromis développement/survie sont vérifiées, mais uniquement à partir des taux de croissances les plus forts. Cependant, cette relation positive sur cette dernière portion des valeurs de taux de croissance n'est supportée que par une minorité de nos lignées, réduisant un peu la portée de nos résultats.

Le seuil de sénescence actuarielle, quant à lui, augmentait avec le temps de développement jusqu'à environ 155 jours de développement larvaire, suivant ainsi la relation attendue selon nos hypothèses d'une sénescence actuarielle plus tardive lorsque le développement est le plus long. La relation est ensuite négative, mais, encore une fois, ne concerne que deux lignées.

Il semblerait donc, d'après nos résultats, qu'affirmer, sous les hypothèses du soma jetable ou celles qui lui sont apparentées, que « une forte vitesse de développement ou de croissance induit une forte sénescence actuarielle » cache une réalité bien complexe chez *T. molitor*. D'abord, nous ne trouvons pas les mêmes résultats selon que nous analysons l'influence du taux de croissance ou celui du temps de développement. Ensuite, l'intensité de la sénescence actuarielle est différente (et est liée de façon différente aux paramètres de croissance) selon que l'on considère le coefficient de sénescence, ou le seuil d'initiation de la sénescence, ou encore l'analyse de la durée de vie des ténébrions.

E – Que nous apprennent les corrélations génétiques entre traits d'histoire vie chez *T. molitor*

L'utilisation de lignées consanguines a permis le calcul de corrélations génétiques entre les traits d'histoire de vie, nous offrant ainsi des indices sur l'architecture génétique des relations entre ces traits. Pour cela, une méthode similaire à celle de l'étude de Letendre *et al.* (2022), consistant en des rééchantillonnages de type Jackknife sur les moyennes des lignées, a été employée. De nombreuses corrélations ont pu être établies, je les résumerai et les discuterai en commençant par les liens entre développement, croissance, masse nymphale et taille, qui sont les traits qui ressortent comme héréditaires d'après nos calculs. Ensuite, je discuterai les corrélations incluant la sénescence reproductive, et celles incluant les paramètres de sénescence actuarielle.

Il y a un lien génétique positif entre temps de développement et la masse nymphale. Cette relation semble assez logique dans la mesure où le temps de développement est aussi, chez *T. molitor*, le temps de croissance. On peut donc s'attendre, en sélectionnant l'un de ces deux traits, à sélectionner l'autre en même temps. La corrélation entre le temps de développement et le taux de croissance n'était pas significative, bien que le premier entre directement dans le calcul du second. Au contraire, la masse nymphale, l'autre valeur qui entre dans le calcul du taux de croissance, est très positivement corrélée à ce taux de croissance. Cette corrélation valide certains de mes précédents arguments qui proposaient qu'un taux de croissance plus élevé s'accompagnait davantage d'une forte masse en fin de croissance plutôt que d'un temps de croissance court. Le paradoxe est cependant que la masse et le temps de développement sont pourtant corrélés génétiquement. La taille, approchée par la longueur des élytres, était évidemment très positivement corrélée à la masse nymphale, au temps de développement et au taux de croissance.

En termes de performances reproductives, on peut tout d'abord noter que, comme attendu compte tenu de nos résultats précédents, le nombre d'œufs produits lors de la période de reproduction précoce, celui de la période tardive et, évidemment, la fécondité totale (qui est la somme des deux) sont tous positivement corrélés à la masse nymphale. Cependant, le coefficient de corrélation est plus fort pour la fécondité tardive. Cela pourrait aller dans le sens d'un effet bénéfique sur le long terme au niveau des performances reproductives du fait

d'avoir davantage de réserves au début de la phase adulte, comme l'ont montré Arrese et Soulages (2010), ainsi que Zanchi et al. (2019). La taille a les mêmes liens avec les fécondités précoces, tardive et totale. Néanmoins, ni la masse nymphale, ni la taille adulte ne sont liées à l'indice de sénescence reproductif. La masse semble donc liée positivement à la fécondité mais pas significativement à la sénescence reproductrice. Il y a également un lien génétique positif entre le nombre d'œufs pondus jeune et celui à un âge plus avancé. Ainsi, il ne semble pas y avoir de lien génétique antagoniste entre performances tôt et tard. Il est possible que, avec cette corrélation positive entre performances précoce et tardive, nous soyons dans le cadre de la pléiotropie positive expliquée par la théorie de l'accumulation de mutation modifiée proposée par Maklakov et al. (2015). Il est aussi possible, comme nous l'avons discuté plus tôt, qu'un point de mesure plus tardif permettrait de mettre en évidence une corrélation négative. Une autre corrélation positive allant dans le sens de cette théorie de pléiotropie positive est celle entre longévité et la fécondité (quelle que soit la fécondité considérée). Cette corrélation positive longévité-fécondité irait a priori à l'encontre des oppositions classiques entre performances précoces et plus tardives dans la vie, notamment proposées par la théorie de la pléiotropie antagoniste (Williams, 1957) et par celle du soma jetable (Kirkwood et Holliday, 1979). Cependant, on doit considérer ici que c'est plus la fécondité dans son ensemble qui est concernée, pas seulement la reproduction précoce ou tardive. Dans le cadre de la stratégie de reproduction restreinte de l'espèce (Jehan *et al.*, 2022a), cette corrélation positive entre la fécondité et la longévité n'est pas nécessairement en opposition avec un compromis tôt-tard dans la vie. En effet, la stratégie de reproduction restreinte, qui postule qu'une relative économie de la reproduction tout au long de la vie permet une durée de vie plus longue est plutôt basée sur un compromis reproduction-longévité que sur un compromis tôt-tard.

La sénescence reproductrice, approchée par l'indice de sénescence reproductrice, était positivement liée à l'indice de sénescence actuarielle. Compte tenu du fait que l'indice de sénescence reproductrice est construit de manière à être plus faible quand la sénescence reproductrice est plus forte, cela pourrait indiquer un compromis entre le maintien des performances reproductrices et le maintien de la probabilité de survie. Cette désynchronisation des sénescences est un phénomène connu (Hayward *et al.*, 2015) et s'il s'agit bien d'un signe de compromis entre reproduction et sénescence actuarielle, cela

pourrait aller dans le sens de la théorie du soma jetable, avec un investissement dans la reproduction, au détriment d'un maintien du soma (Kirkwood et Rose, 1991). Il est intéressant de noter (en lien avec la discussion du paragraphe précédent) que l'indice de sénescence reproductive n'était pas lié génétiquement à la longévité. Enfin, le lien prédit par nos hypothèses, postulant qu'un investissement plus grand dans la vitesse de développement ou de croissance devrait être accompagné de davantage de sénescence reproductive, est corroboré génétiquement, comme il l'était phénotypiquement quand on s'intéressait à l'indice de sénescence reproductif, puisque l'indice est positivement corrélé avec le temps de développement et négativement avec le taux de croissance. Ceci signifie donc que sélectionner pour un fort taux de croissance, comme le souhaitent les éleveurs de *T. molitor* pour en faire de la farine animale, pourrait également sélectionner une sénescence reproductive plus importante.

Le lien négatif entre longévité et vitesse de développement/croissance, prévu par nos hypothèses, semble reposer plus sur un lien génétique avec le taux de croissance, qu'à un lien avec le temps de développement. La corrélation négative entre la longévité et le taux de croissance pourrait être la preuve de la présence de gènes avec des effets pléiotropiques antagonistes. Ceux-ci pourraient favoriser une répartition des ressources vers la croissance plutôt que le maintien du soma. Cette répartition mènerait à une vie raccourcie, comme postulé par la théorie du soma jetable. L'importance du taux de croissance plutôt que du temps de développement sur la longévité pourrait aller dans le sens que c'est la production de ROS, favorisée par certaines voies métaboliques impliquées dans la nutrition, qui serait à l'origine du compromis (Lind *et al.*, 2016 ; Pan et Finkel, 2017 ; Gems, 2022). Contrairement à ce que nous aurions pu attendre compte tenu de l'effet protecteur omniprésent de la masse nymphale dans nos résultats précédents, celle-ci n'est pas corrélée génétiquement à la longévité. Le fait que la longévité ne soit pas significativement héritable, alors que la masse nymphale montre une très forte héritabilité, tendrait à montrer que les relations mises en évidence lors de l'analyse des longévités individuelles ne sont pas de l'ordre de pléiotropie positives avec la masse, mais résulte de phénomènes plus complexes. Enfin, l'indice de sénescence actuarielle est, logiquement négativement corrélé avec la longévité. Mais, il est surtout corrélé positivement au taux de croissance, à l'instar de l'indice de sénescence reproductif. Ce résultat corrobore le lien que nous supposions entre forte capacité de

croissance et forte sénescence actuarielle. Comme pour la longévité, le temps de développement n'a pas de lien significatif avec la sénescence actuarielle, montrant bien que les liens génétiques reposent sans doute sur des gènes liés au métabolisme.

F – Limites et perspectives

Bien qu'apportant de nouveaux éléments pour argumenter sur les liens entre sénescence et vitesse de croissance ou de développement, notamment à travers une analyse des corrélations génétiques, il est évidemment qu'elle n'est pas exempte de biais ni dénuée de possibilités d'amélioration. Tout d'abord, l'utilisation de lignées consanguines présente le risque d'induire de la dépression de consanguinité qui pourrait fausser notre résultat. Des lignées entières pourraient être caractérisées par des individus présentant des altérations sur divers des traits de vie. Pour atténuer ce problème, nous avons tenté d'éliminer de nos analyses les lignées que nous estimions présenter « trop » de dépression de consanguinité. Par ailleurs, en considérant l'ensemble de cette thèse, les compromis résultant de l'utilisation de ces lignées consanguines sont comparables à ceux décrits dans la Partie 1, où la manipulation de l'environnement permettait d'obtenir des développements larvaires contrastés. Cette cohérence de résultats nous conduit à penser que les éventuels biais de chacune de nos deux grandes approches indépendantes n'ont pas entravé notre capacité à mettre en évidence des phénomènes biologiques importants.

T. molitor est une espèce largement étudiée, en particulier actuellement en raison de son intérêt économique, notamment pour l'alimentation animale et humaine (Ghaly et Alkoaik, 2009 ; Siemianowska *et al.*, 2013 ; Kim, Kim et Jeong, 2019). Les différentes populations de vers de farine étudiées à travers le monde présentent des traits d'histoire de vie très variables (Rumbos *et al.*, 2021 ; Eleftheriou *et al.*, 2022). Une étude similaire à celle présentée ici, mais utilisant certaines de ces populations, pourrait donc apporter des informations supplémentaires sur les relations entre les traits d'histoire de vie précoce et la sénescence, ainsi que sur les liens génétiques entre caractéristiques. Certaines de nos expériences préliminaires, comparant l'élevage maintenu depuis des années au laboratoire avec une population plus « sauvage », ont d'ailleurs révélé d'importantes différences en termes de vitesse de développement/croissance, de masse et de fécondité (observation personnelle).

Ensuite, comme nous l'avons mentionné dans le contexte de la sénescence reproductive, en particulier en ce qui concerne le nombre d'œufs pondus en fonction de l'âge des femelles, seuls deux points de mesure ont pris en compte. Cela ne permet évidemment pas d'avoir une idée de la trajectoire de la sénescence reproductive, laquelle pourrait fournir davantage d'informations : quand la fécondité commence-t-elle à diminuer ? Atteint-elle un plateau, ou continue-t-elle à diminuer jusqu'à la mort ? Et, bien sûr, est ce que tout cela est lié à la vitesse de développement ou de croissance ? Il semble envisageable d'ajouter d'autres points de mesure, voire de mesurer de manière continue le nombre d'œufs pondus par les femelles au cours de leur vie, au prix d'un effectif plus restreint. De plus, cette approche devra prendre en compte la disparition sélective (Carey et Liedo, 1995 ; Nussey *et al.*, 2011), car lorsque la mortalité commencera à augmenter avec l'âge, les femelles de meilleure qualité survivront plus longtemps, et elles produisent plus d'œufs. Il est également important de noter que nous n'avons pris en compte ici que les femelles et qu'une fraction seulement de tous les éléments impliqués dans la reproduction (Lemaître et Gaillard, 2017). Cette observation est d'ailleurs généralisable à l'ensemble de notre étude. Les patrons de sénescence, qu'ils soient reproductifs, actuariels, ou immunitaires, ont souvent été démontrés comme pouvant différer entre les sexes (Tidière *et al.*, 2015 ; Lind *et al.*, 2016 ; Kecko *et al.*, 2017 ; Jehan *et al.*, 2020 ; Bronikowski *et al.*, 2022).

Enfin, il est important de souligner que cette étude ne s'est pas penchée sur l'immunité. Pourtant, l'immunité est un élément crucial dans le contexte de la sénescence. Cela peut être dû au fait que c'est une fonction sujette à la sénescence, ce qui peut avoir des répercussions sur la survie en cas d'infection (Pawelec, 2018), ou bien elle peut être un élément des mécanismes du déclin de l'organisme (Sadd et Siva-Jothy, 2006 ; Khan, Agashe et Rolff, 2017). Pour ces raisons, une troisième expérience, visant à tester l'hypothèse selon laquelle l'investissement dans l'immunité à long terme, ici sous la forme du priming immunitaire, devrait être plus fort chez les individus ayant connu une croissance plus lente, en raison d'une probabilité d'exposition potentielle accrue à des pathogènes, a été réalisée. Cette expérience reposait sur les mesures de temps de développement et d'autres traits d'histoire de vie fait dans la présente étude. Trois lignées considérées comme présentant une croissance lente et trois considérées comme rapides ont été sélectionnées. Cependant, les résultats n'ont pas confirmé notre prédiction, car nous n'avons pas observé de priming immunitaire plus long

chez les lignées à croissance plus lente. Néanmoins, plusieurs imprévus ont perturbé le déroulement de cette expérience, notamment une attaque de rats sur les larves destinées à l'expérience, rendant ainsi les résultats peu fiables. Il est à noter que cette expérience a fait l'objet d'un stage de master 2, dont le rapport est disponible en Annexe 5.

Conclusion

En utilisant des lignées consanguines de *T. molitor*, que nous avons pu caractériser comme variables sur plusieurs traits d'histoire de vie, les hypothèses de la théorie du soma jetable selon lesquelles un investissement plus important dans la vitesse de développement ou de croissance devrait s'accompagner, par le biais d'un sous-investissement dans le maintien somatique, d'une sénescence accrue, ont été évaluées. Un temps de développement court ou un taux de croissance élevé augmente l'ampleur de la sénescence reproductive des femelles. Cet effet est confirmé génétiquement par une corrélation génétique entre taux de croissance et la sénescence reproductive. Cependant, cette relation semble reposer sur une fécondité précoce plus forte des femelles les plus rapides, suivie d'une décroissance tardive, plutôt que par des performances tardives inférieures à leurs congénères plus lentes. Phénotypiquement, les *T. molitor* (mâles et femelles confondus) investissant le plus dans le développement et la croissance vivaient plus longtemps, contrairement à nos attentes. La relation en termes de corrélation génétique allait au contraire dans le sens attendu. Ainsi, bien que la masse et la taille atteinte en fin croissance semblent diminuer l'effet, l'investissement dans le développement et la croissance semble également avoir un impact, plutôt négatif, sur la sénescence actuarielle, mais montre des variations selon le critère considéré pour la caractériser.

Discussion générale

Par égard pour les lecteurs et lectrices, qui, arrivés à ce stade ont déjà lu au moins trois fois mes explications sur les théories évolutives de la sénescence, je ne rappellerai pas ces théories dans ce préambule de discussion générale et je tenterai de rester synthétique sur ce sujet dans les discussions qui vont suivre.

L'objectif de cette discussion générale est de remettre en perspective les résultats obtenus dans les deux parties de cette thèse. En effet, les approches présentées dans ces deux parties ont été pensées comme complémentaires, conformément aux recommandations de Dmitriew (2011), qui soutenait que toutes les approches visant à étudier les coûts d'une croissance rapide comportent des biais. Ainsi, puisque se soustraire aux biais évoqués par cette autrice est, au minimum, très complexe et probablement impossible, j'ai choisi deux approches indépendantes pour obtenir une variabilité de vitesse de développement et de croissance chez *T. molitor* assez forte pour être mise en relation avec la sénescence. La première était une approche expérimentale passant par une modification de l'environnement larvaire ; la seconde était une approche corrélative utilisant des lignées consanguines qui a également permis d'aborder les bases génétiques des corrélations entre traits de vie. Ces deux approches m'ont permis de tester l'hypothèse commune à plusieurs théories de la sénescence (Haldane, 1941 ; Williams, 1957 ; Kirkwood, 1977 ; de Magalhães et Church, 2005 ; Hughes et Reynolds, 2005 ; Blagosklonny, 2012), notamment la pléiotropie antagoniste et la théorie du soma jetable, selon laquelle une forte intensité de développement aurait comme coût une sénescence accrue ou plus précoce. Nous avons toujours pris soin de traiter à part les effets du temps de développement et ceux du taux de croissance, bien qu'ils soient liés, car ils n'impliquent pas, comme nous le discuterons plus amplement, tout à fait les mêmes phénomènes sur la sénescence.

La sénescence a été considérée sous trois aspects : i) la sénescence reproductive, pour laquelle j'ai testé si la baisse de fécondité était plus marquée chez les femelles de *T. molitor* les plus rapides à se développer ; ii) la sénescence actuarielle, pour laquelle j'ai testé deux choses : d'abord si les insectes les plus rapides à se développer vivaient moins longtemps une fois la phase adulte atteinte, puis si les patrons des mortalités âge-spécifiques montraient une sénescence accrue et/ou plus précoce en fonction de la vitesse de développement ; iii) la sénescence immunitaire, pour laquelle j'ai considéré différentes composantes de l'immunité dont les avantages et coûts à court et long terme sont différents. J'ai cherché à savoir si les

adultes de *T. molitor* se développant plus vite investissaient davantage dans une immunité efficace à court terme, le système proPO/PO, qui impose un coût important sous la forme d'auto-immunité (Siva-Jothy, Moret et Rolff, 2005 ; Sadd et Siva-Jothy, 2006 ; Khan, Agashe et Rolff, 2017) mais moins dans une immunité de plus long terme, notamment la production de peptides antibactériens (Haine *et al.*, 2008 ; Vigneron *et al.*, 2019).

Avant de comparer les résultats des deux approches, j'aimerais revenir sur leurs spécificités.

I – Spécificités des approches utilisées pour faire varier le temps de développement et le taux de croissance

A – Approche expérimentale : modification de l'environnement larvaire

La première des deux approches utilisées pour augmenter la variabilité de vitesse de développement de *T. molitor* était basée sur la plasticité des réponses des larves placées dans différentes conditions environnementales. Un total de neuf cents larves provenant du stock exogame maintenu au laboratoire (trois cents pour la sénescence reproductive et actuarielle, et six cents pour la sénescence immunitaire) ont été suivis tout au long de leur vie pour cette expérience. J'ai employé deux types de modifications environnementales larvaires, en agissant sur la température et l'humidité relative. Les résultats communs à ces deux types de modification environnementale peuvent être considérés comme plus robustes que s'ils avaient été obtenus en manipulant le développement uniquement avec une seule condition, en raison des biais spécifiques qui leurs sont associés. Les conditions étaient choisies pour ne pas être dangereuses pour les insectes et par conséquent, ne pas provoquer de mortalité larvaire (Howe, 1956 ; Punzo et Mutchmor, 1980 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018). Cependant, l'utilisation de l'humidité relative a révélé un biais, puisque les individus ayant grandi dans la condition la plus humide (H85) bénéficiaient d'un effet « *silver spoon* » (Lindström, 1999 ; Cooper et Kruuk, 2018) par rapport aux deux autres conditions (H55 et H70). En effet, ils ont pu à la fois se développer rapidement, avec un taux de croissance élevé, et montrer de bonnes performances au stade adulte, notamment en termes de fécondité et de longévité. L'humidité relative semble être le facteur ayant le plus d'influence sur la croissance, dans des conditions de nourrissage *ad libitum* (Ribeiro, Abelho et Costa, 2018). Les différentes conditions de température larvaire semblaient présenter moins de biais sur la qualité des individus. Cela

était particulièrement visible par le fait que les masses moyennes en fin de croissance étaient similaires entre les différentes conditions. Or, la masse en début de phase adulte est un indicateur de la qualité individuelle et un prédicteur des performances futures (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019). La similitude de qualité entre les individus ayant grandi dans les différentes conditions de températures venait probablement de la forte humidité relative qui accompagnait ces différentes conditions, humidité identique à celle ayant induit l'effet « *silver spoon* ». Cependant, faire varier la température n'est pas exempt de biais. En effet, la condition de température la plus chaude (T28) a induit un coût chez les insectes, en termes de longévité adulte, sans qu'un gain de vitesse de développement ou de taux de croissance ne soit observé par rapport à la condition intermédiaire (T24). Cet effet pourrait résulter d'une activité immunitaire plus importante au stade larvaire comme conséquence de l'exposition à la température plus élevée (Adamo et Lovett, 2011 ; Murdock *et al.*, 2012 ; Muturi, Nyakeriga et Blackshear, 2012 ; Fedorka, Lee et Winterhalter, 2013) ou d'une modification du métabolisme (Gillooly *et al.*, 2001 ; Bjørge *et al.*, 2018).

B – Approche corrélative : lignées consanguines

La seconde approche était basée sur l'utilisation de 17 lignées consanguines de *T. molitor*. Ces lignées sont issues de six à sept générations de croisement frère-sœur à partir du stock exogame de base maintenu au laboratoire à Dijon. Les différences de temps de développement et de taux de croissance venaient donc principalement de différences génétique entre des individus issus de ces lignées. En plus d'éviter les biais des manipulations d'environnement décrits plus haut, cette approche a eu l'avantage de permettre le calcul d'héritabilité des traits d'histoire de vie relatif au développement, ainsi que d'établir leur corrélation génétique avec les traits relatifs à la sénescence reproductive et actuarielle. Pour cela, plus de mille individus issus des différentes lignées consanguines ont été suivi au cours de leur vie. Néanmoins, comme pour l'expérience précédente, cette approche n'est pas dénuée d'inconvénients. Dans ce cas, c'est l'intensité de la dépression de consanguinité, variable entre les lignées, qui peut constituer un biais. En effet, il est impossible d'exclure que lors des croisements frère-sœur successifs, davantage d'allèles délétères aient pu se fixer dans certaines lignées. J'ai pu le constater entre lignées, mais également en comparaison de l'élevage de base utilisé dans l'approche expérimentale. Par exemple, la mortalité larvaire a été beaucoup plus forte dans l'expérience utilisant les lignées que dans celle dans laquelle

l'environnement larvaire a été modifié. Pour pallier cet effet, la lignée d'origine des individus a toujours été prise en compte dans les analyses statistiques, et les trois lignées identifiées comme présentant des valeurs de traits très inférieures aux autres ont été retirées du jeu de données pour les analyses de sénescence.

Ces lignées consanguines ne sont pas des lignées sélectionnées. Avant cette expérience, il était fortement supposé qu'elles présentaient des temps de développement ou des taux de croissance différents, mais ce n'était pas établi formellement. Il s'est avéré que les lignées ont bien montré des temps de développement et des taux de croissance différents, à l'instar de la variation connue entre populations (Rumbos *et al.*, 2021). Chacune des lignées, considérées indépendamment, a cependant montré une variabilité moindre que l'élevage de départ (observation personnelle), mais une telle perte de variabilité est attendue lorsque des lignées consanguines sont constituées (Letendre *et al.*, 2022).

C – Variation des temps de développement et taux de croissance de *T. molitor* en fonction des deux approches

L'ampleur des variations sur le temps de développement et le taux de croissance n'était pas la même avec toutes les approches. Les temps de développement que nous avons observé étaient compris entre 77 et 172 jours (1^{er} quartile = 95 jours et 3^{ème} quartile = 133 jours) dans les différentes conditions de températures larvaires, entre 77 et 189 jours (1^{er} quartile = 109 jours et 3^{ème} quartile = 144 jours) dans les différentes conditions d'humidités relatives et entre 101 et 244 jours (1^{er} quartile = 136 et 3^{ème} quartile = 244 jours) entre les lignées consanguines. Les taux de croissance étaient compris entre 0,73 et 2,04 mg/jour (1^{er} quartile = 1,28 mg/jour et 3^{ème} quartile = 1,64 mg/jour) pour les températures larvaires, 0,55 et 1,93 mg/jour (1^{er} quartile = 0,79 mg/jour et 3^{ème} quartile = 1,43 mg/jour) pour les humidités relatives larvaires et entre 0,35 et 1,25 mg/jour (1^{er} quartile = 0,78 mg/jour et 3^{ème} quartile = 0,96 mg/jour) pour les lignées. Les lignées semblent plus lentes à se développer et à grandir. Il est probable que la forte humidité utilisée dans les différentes conditions de température a permis d'augmenter la prise de masse par unité de temps (Howe, 1956 ; Punzo et Mutchmor, 1980 ; Ribeiro, Abelho et Costa, 2018), c'est-à-dire la croissance (van der Have et de Jong, 1996). De plus, dans les deux expériences de manipulation des conditions larvaires, les individus étaient nourris avec un mélange de son de blé et de nourriture pour poisson, alors

que seul du son de blé a été proposé aux larves des différentes lignées consanguines. La nourriture pour poisson constituait une source supplémentaire de protéine qui a pu augmenter le taux de croissance des larves de l'expérience de manipulation de l'environnement larvaire. En effet, si la quantité de nourriture n'intervient pas ici, puisque toutes les larves étaient nourries *ab libitum*, la qualité nutritionnelle, notamment le ratio glucide:protéine, joue un rôle dans la croissance de *T. molitor* (Kim *et al.*, 2017 ; Rumbos *et al.*, 2020). Il est donc impossible de comparer directement les valeurs générées par nos deux types d'approches, ou de les inclure dans une analyse statistique globale.

Les mêmes types d'analyses ont cependant été effectués au sein des deux approches, à l'exception de l'étude de la sénescence immunitaire absente de l'approche avec les lignées consanguines. Celle-ci a fait l'objet d'une expérience qui n'a pas été jugée suffisamment fiable pour être intégrée dans cette thèse et est présentée uniquement en annexe. La similarité des analyses permet de comparer leurs résultats, à défaut de comparer leurs valeurs, et ainsi de déterminer s'ils sont robustes ou peuvent être le fruit des biais inhérents à l'approche. Afin de faciliter la mise en perspective des résultats des deux approches, un tableau récapitulant les résultats principaux sur les effets du temps de développement et du taux de croissance pour les trois aspects de la sénescence est présenté dans cette discussion (Tableau D.1).

		MODIFICATIONS ENVIRONNEMENTALES LARVAIRES				LIGNEES CONSANGUINES			
		Température		Humidité relative		Données individuelles		Corrélations génétiques	
		Temps de développement	Taux de croissance	Temps de développement	Taux de croissance	Temps de développement	Taux de croissance	Temps de développement	Taux de croissance
PERFORMANCES REPRODUCTIVES PRECOCES ET TARDIVES	Indice de sénescence	(+) (tendance p = 0,053)	(-)	Aucun effet	(-) pour les femelles H85 Aucun effet pour les autres	Effet quadratique : (+) jusqu'à 190 jours (-) après	(-)	(+)	(-)
	Nombre d'œufs pondus	Aucun effet	(+) période précoce Aucun effet pour période tardive	Aucun effet	(+) période précoce Aucun effet pour période tardive	(-) période précoce Aucun effet pour période tardive	(+) période précoce Aucun effet pour période tardive	(+) fécondité tardive	(+) fécondité précoce (+) fécondité tardive
LONGEVITE ET SENESCENCE ACTUARIELLE	Longévité	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet	(-)	(+)	Pas de corrélation	(-)
	Probabilité de survie	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet	Effet délétère qui diminue avec l'âge	Effet protecteur qui diminue avec l'âge		
	Paramètres de sénescence	Trop peu de points pour tester les effets						Pas de corrélation	b : (-) ω : (+)
STRATEGIE IMMUNITAIRE PRECOCE ET TARDIVE	Défenses cellulaires	Jeune : (+) avant et après challenge Différence avant/après (+) Vieux : Aucun effet		Aucun effet					
	Système proPO/PO	Aucun effet avant challenge (-) après challenge		Aucun effet					
	Activité antibactérienne	Jeune : (-) avant challenge (+) après challenge Vieux : (-) avant et après challenge Différence avant/après (-)		Jeune : (-) avant challenge (+) après challenge Différence avant/après (+) Vieux : (-)					

Tableau D.17 : Résumé des principaux effets du temps de développement et du taux de croissance sur les mesures (en ligne) faites pour approcher la sénescence reproductive, actuarielle et immunitaire, grâce à différentes approches (en colonne), mis en évidence dans les deux parties de la thèse. Les (-) et (+) correspondent au sens des relations quand il en a été trouvée une. Les résultats en vert sont ceux qui allaient dans le sens de nos hypothèses, en rouge qui allaient à l'encontre de celles-ci et en hachuré rouge et vert, les résultats allant en partie dans le sens de nos prédictions.

II – Vitesse de développement/croissance et sénescence reproductive

Pour rappel, la sénescence reproductive a été évaluée grâce à des comptages d'œufs pondus par les femelles lors de deux événements de reproduction intervenus tôt et tard dans leur vie d'adulte. Elle a été analysée soit avec un indice de sénescence reproductive (qui est d'autant plus négatif que la sénescence est grande), soit en comparant directement les nombres d'œufs pondus à ces deux périodes. L'indice de sénescence était défini comme la différence entre la fécondité de la période de reproduction tardive et celle de la période précoce, rapportée à la somme des deux (i.e. la fécondité totale) afin de tenter de tamponner l'effet de la qualité individuelle, en partant du principe qu'elle s'exprime à travers la fécondité. Ainsi, plus l'indice est faible, plus la sénescence reproductive est forte. La période de reproduction précoce a été mesurée pendant le pic présumé de fécondité, entre environ 10 et 20 jours post-émergence (Dick, 1937 ; Drnevich *et al.*, 2001 ; Jehan *et al.*, 2020). La période tardive, située entre environ 40 et 50 jours post-émergence, a été choisie à partir de notre connaissance de l'élevage de *T. molitor* de Dijon (Jehan *et al.*, 2020) pour inclure le début de la sénescence reproductive, mais pour se situer avant le début de l'augmentation de la mortalité, afin d'éviter le phénomène de disparition sélective. En effet, choisir une période plus tardive aurait équivalu à mesurer la fécondité chez les femelles ayant survécu à la sénescence actuarielle, c'est-à-dire en ne considérant que les femelles potentiellement « meilleures », peut-être supérieures sur d'autres traits. Les individus ayant des performances reproductives élevées deviendraient alors potentiellement surreprésentés à un âge avancé, pouvant générer artificiellement une augmentation tardive du rendement reproductif (Nussey *et al.*, 2008).

A – La sénescence reproductive est plus forte chez les femelles avec des taux de croissance élevés

Les deux approches ont abouti à des résultats très similaires sur l'indice de sénescence (Tableau D.1), en particulier son lien avec le taux de croissance. L'indice de sénescence reproductive diminue, donc la sénescence reproductive augmente quand le taux de croissance augmente. Ce résultat a été obtenu avec les femelles ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative, mais en interaction avec la condition d'humidité relative. En effet, seules les femelles issues des larves maintenues à 85% HR, qui étaient celles présentant la plus

grande variabilité et les valeurs les plus élevées de taux de croissance, ont manifesté cette sénescence reproductive plus prononcée. Dans les cas des femelles ayant grandi dans les différentes conditions de température et les femelles des lignées consanguines, la sénescence reproductive augmentait également avec le taux de croissance. Ce résultat est donc robuste puisqu'obtenu avec toutes les approches considérées dans cette thèse. Il est pleinement en accord avec les prédictions faites par certaines théories de la sénescence, en particulier celle du soma jetable (Kirkwood, 1977). Cette théorie repose sur l'opposition du début de la vie, jusqu'à la première reproduction, et la fin de la vie, en raison de la diminution de la force de la sélection naturelle avec l'âge (Haldane, 1941 ; Williams, 1957 ; Hamilton, 1966). Elle postule que la sénescence viendrait d'un compromis entre développement, qui permet d'atteindre le stade de la reproduction, et le maintien tardif de l'organisme (Kirkwood et Holliday, 1979 ; Drenos et Kirkwood, 2005 ; Kirkwood, 2005). Le développement et le maintien de l'organisme étant des fonctions coûteuses en ressources et énergie, et les capacités d'acquisition de ressources étant limitées, toutes les fonctions ne peuvent pas être maximisées. La fonction de maintien de l'organisme, pour laquelle tout sous-investissement ne se paye que tard dans la vie, pourrait alors être sacrifiée au profit d'une croissance rapide (Metcalf et Monaghan, 2003 ; Kirkwood, 2005 ; Dmitriew, 2011). Or le « maintien de l'organisme » est une fonction regroupant les mécanismes de réparations des dommages et erreurs, par exemple des macromolécules dont la dégradation sont un signe et un facteur de sénescence (López-Otín *et al.*, 2013). Avec le temps, l'accumulation de ces dommages et erreurs mènerait à la chute des performances, ce qui constitue la sénescence, notamment reproductive.

Ce type de relation entre le développement et la sénescence reproductive a rarement été étudié, et encore plus rarement en considérant séparément le temps de développement et le taux de croissance. Cependant, si on considère que ces deux caractéristiques du développement sont directement liées (chez les espèces à croissance finie, la phase de développement et la phase de croissance sont conjointes), des liens entre développement et sénescence reproductive ont déjà été mis en évidence chez des invertébrés, mais aussi des vertébrés (bien que cela soit encore plus rare, en particulier en milieu naturel (Lemaître *et al.*, 2015)). Pour les invertébrés par exemple, dans le complexe d'espèces *Daphnia culex-pulicaria*, les femelles ayant le temps de développement le plus court, car appartenant à des populations soumises à un stress temporel, ont une sénescence reproductive plus forte et précoce

(Dudycha et Tessier, 1999). Chez *Drosophila melanogaster*, une corrélation positive entre temps de développement réduit et précocité de la sénescence reproductive a été mise en évidence via une expérience d'évolution expérimentale (Stearns *et al.*, 2000). Dans une étude passant par la modification de l'alimentation larvaire de *Protophila litigata*, la sénescence reproductive des mâles avait une tendance à augmenter avec leur vitesse de croissance larvaire (Angell *et al.*, 2020). Chez les vertébrés, Lemaître *et al.* (2015) dans leur synthèse sur les compromis entre tôt et tard dans la vie en milieu naturel, soulignent un lien positif entre la croissance et la sénescence reproductive chez le bison (Green et Rothstein, 1991), mais une relation négative chez la couleuvre de l'Ouest, *Thamnophis elegans*, avec des performances reproductives augmentant avec l'âge. Ce dernier cas se place cependant dans le cadre de la « sénescence négative » décrite par Vaupel *et al.* (2004) en particulier chez les espèces ayant une croissance qui ne s'arrête pas après leur puberté. Notre étude est cependant la première à notre connaissance à obtenir des résultats concordant avec plusieurs approches simultanées dans une étude visant à tester cette relation.

Par rapport au taux de croissance, nos différentes approches ont cependant révélé moins d'homogénéité quant à l'effet du temps de développement sur l'indice de sénescence reproductive. Dans l'approche utilisant les femelles issues des lignées consanguines, un temps de développement court est, comme attendu, accompagné d'une sénescence reproductive plus grande jusqu'à un temps de développement d'environ 190 jours. La relation s'inverse ensuite, mais dépend de peu de points qui pourraient correspondre à des individus de très faible qualité. En effet, j'ai fréquemment observé que les individus qui mettaient un temps beaucoup plus long que les autres à se développer montraient souvent des difformités et/ou mourraient rapidement une fois le stade adulte atteint. On pourrait alors plutôt parler de plateau dans l'augmentation de sénescence, plutôt que d'une baisse de la sénescence. Le lien négatif entre le temps de développement et la sénescence reproductive, prédit par la théorie, est également présent dans les corrélations génétiques. Une tendance allant dans le même sens était présente pour les femelles ayant grandi dans différentes conditions de température, mais pas pour celles ayant grandi à différentes humidités relatives. Dans cette dernière expérience, les durées de développement courtes étaient aussi associées à de fortes masses (effet « *silver spoon* ») qui ont pu masquer un coût ultérieur, les femelles étant de meilleure qualité. La disparité entre l'effet du taux de croissance et celui de la vitesse de développement

sur la sénescence reproductive pourrait découler du fait que l'inclusion de la masse dans le calcul du taux de croissance a rendu possible la détection d'un effet négatif d'un taux de croissance élevé, aspect impossible à détecter en utilisant uniquement le temps de développement.

B – La sénescence reproductive s'explique en partie par un surinvestissement des femelles à croissance rapide lors de la première période de reproduction

Les analyses du nombre d'œufs pondus tôt et plus tard dans la vie ont apporté davantage de détails sur les trajectoires de sénescence reproductive des femelles de *T. molitor* en fonction de leur vitesse de croissance. Ici encore, les résultats des différentes approches concordent pour la relation avec le taux de croissance, alors qu'elles génèrent des résultats plus variables pour la relation avec le temps de développement.

Dans toutes nos expériences, nous avons observé que plus les femelles avaient un taux de croissance élevé, plus leur fécondité précoce était forte. Ce résultat est en accord avec la théorie du soma jetable, et les théories de la sénescence en général. Les femelles qui grandissent rapidement semblent suivre une trajectoire de vie rapide, investissant fortement dans la croissance et la reproduction en début de phase adulte. Cependant, selon la théorie du soma jetable, de tels investissements accrus dans la croissance durant de la phase larvaire et dans la reproduction en début de vie adulte devraient être associés à une sénescence accélérée. Contrairement à cette prédiction théorique, mes observations montrent que le taux de croissance n'a pas d'effet sur la fécondité tardive. Ainsi, bien que les femelles à fort taux de croissance présentent une fécondité précoce plus élevée, leurs performances tardives sont similaires à celles de leurs congénères à croissance moins intense. Autrement dit, les femelles à forte croissance présentent une sénescence reproductive plus marquée, comme attendu, mais cela est dû au fait qu'elles partent d'un niveau plus élevé, et non pas parce qu'elles terminent en dessous de leurs congénères plus lentes.

Plusieurs hypothèses, non-exclusives, peuvent être proposées pour expliquer ce phénomène. Premièrement, j'ai uniquement considéré deux points de mesure de la fécondité. Bien que ces deux points aient été choisis pour minimiser la disparition sélective, ils ne couvrent qu'une partie de la vie des femelles de *T. molitor*. Il est possible que le deuxième point de mesure considéré ait été positionné trop tôt dans la vie des femelles pour détecter un éventuel coût

tardif associé à un taux de croissance élevé. Les mesures de longévité réalisées au cours de cette thèse montrent que nos insectes, élevés isolément, peuvent vivre plus de dix semaines et que la mortalité commence à augmenter de manière conséquente seulement qu'après la 10^{ème} semaine post-émergence, pour la plupart des conditions larvaires et lignées consanguines. Cela suggère la possibilité de décaler la seconde mesure de fécondité vers une période ultérieure ou d'inclure davantage de points de mesure. Dans l'étude de Jehan *et al.* (2020) portant sur les patrons de sénescence en fonction de l'effort reproductif manipulé via le sex-ratio, la fertilité des femelles de la condition qui présentait la meilleure fertilité précoce, ne descendait en dessous des autres conditions qu'après la 6^{ème} semaine post-émergence, avec une accentuation ultérieure. Dans cette étude, les animaux étaient maintenus en groupe. Leur durée de vie n'a alors pas excédé 11 semaines, contrairement à nos propres observations où la survie était nettement meilleure. Peut-être aurait-il été judicieux, dans nos protocoles où la mortalité s'exprime plus tardivement, d'ajouter un point de mesure aux alentours de la 10^{ème} semaine sans qu'un phénomène de disparition sélective ne soit marqué. Cependant, nous n'avions pas anticipé une telle amélioration de la survie par rapport aux expériences précédentes.

Une autre possibilité serait de suivre la fécondité des femelles tout au long de leur vie, en effectuant, par exemple, des comptages d'œufs à intervalles réguliers de quelques jours. Cela permettrait d'obtenir les seuils de début de la sénescence reproductive et son taux. Bien que cette approche soit logistiquement complexe, elle pourrait être envisagée. Dans ce cas, il serait essentiel de prendre en compte la disparition sélective (Vaupel, Manton et Stallard, 1979) en intégrant la longévité, comme signe de qualité des individus, dans les modèles statistiques (Hayward *et al.*, 2013).

Un autre facteur pouvant expliquer l'absence de coût sur la fécondité tardive chez les femelles à fort taux de croissance est la stratégie reproductive de l'espèce. En effet, les femelles de *T. molitor* semblent adopter une stratégie de reproduction restreinte (Jehan *et al.*, 2022a), contrairement à l'investissement terminal, où la survie et les occasions potentielles de reproductions futures sont sacrifiées au profit de la reproduction actuelle (Clutton-Brock, 1984). Cette observation est attestée par le fait que les femelles les plus longévives sont généralement les plus fécondes, à l'opposé de ce qu'y aurait été observé avec une stratégie d'investissement terminal. Un tel lien positif entre la fécondité et la longévité a aussi été

constaté chez l'agrion *Coenagrion puella* (Hassall *et al.*, 2015). Ainsi, dans le cadre d'une stratégie de reproduction restreinte, la fécondité tardive observée ici similaire entre femelles à fort ou faible taux de croissance, résulterait d'une sélection favorisant le maintien d'une fécondité correcte jusqu'à une période avancée de la vie. Cet élément constitue néanmoins seulement une partie de l'explication, car les femelles à croissance plus rapide bénéficient d'une fécondité précoce plus élevée. Il est possible que la masse des individus et par conséquent leur qualité (étant donné que c'est un indicateur de qualité les insectes (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019)) joue un rôle ici. En effet, les femelles commençant leur vie adulte avec plus de réserve, donc ayant les plus grandes capacités d'acquisition de masse par unité de temps (c'est-à-dire le plus fort taux de croissance), pourraient investir davantage dans leur première reproduction et avoir de meilleures capacités pour reconstituer leurs réserves. Cela expliquerait l'effet globalement positif de la masse avant la période de reproduction considérée sur la fécondité. Le point sur les meilleures capacités à reconstituer les réserves de l'organisme repose néanmoins sur une hypothèse forte que je n'ai pas vérifiée, qui serait que les individus avec le plus haut taux de croissance au stade larvaire maintiendraient cette forte allocation des ressources vers la prise de masse à l'âge adulte. Des mesures de masses au cours de la vie, non-encore exploitées pourraient apporter des éléments de réponse.

Une autre explication possible pourrait résulter des conditions dans lesquelles les individus des expériences de cette thèse ont été placés. En effet, ces conditions diffèrent beaucoup de l'écologie naturelle de l'espèce, car les individus expérimentaux étaient isolés très tôt dans leur vie. De plus, la nourriture n'était pas limitée, et les conditions de température ainsi que d'hygrométrie étaient très contrôlées et optimales. Ces éléments pourraient expliquer la capacité de nos insectes à maintenir des réserves importantes tout au long de leur vie adulte, masquant ainsi les coûts associés à un taux de croissance accru. En effet, les compromis d'allocation de ressources sont parfois plus visibles en condition de stress (Moret et Schmid-Hempel, 2000 ; Boggs, 2009 ; Dupont-Prinet *et al.*, 2010), et un dispositif expérimental impliquant une compétition entre individus pourrait révéler les coûts d'un taux de croissance plus élevé. De plus, l'isolement des individus a aussi une conséquence sur leur risque d'exposition à des pathogènes ou simplement des bactéries ou virus qui pourrait provoquer des réponses immunitaires. Cela constituerait une source de stress en moins et donc moins

de compromis avec les performances reproductives ou actuarielles. En effet, il est à noter que les insectes qui se sont développés le plus rapidement investissent aussi plus à la fonction proPO de leur système immunitaire qu'aux défenses cellulaires ou à l'activité antibactérienne (Partie 1, Chapitre 3). Le système proPO/PO, représente une immunité à court terme et est au cœur de la réponse inflammatoire chez les invertébrés (Siva-Jothy, Moret et Rolff, 2005). Le seul maintien (sans activation) d'un système proPO/PO performant pourrait être associé à une réduction de la longévité chez *T. molitor* (Armitage *et al.*, 2003). Avec activation, ce système pourrait être la source de dommages à l'organisme qui pourraient accentuer la sénescence (Moret et Schmid-Hempel, 2000 ; Pursall et Rolff, 2011 ; Krams *et al.*, 2013 ; Khan, Prakash et Agashe, 2016 ; Khan, Agashe et Rolff, 2017). Il pourrait alors être envisageable, que cette voie immunitaire, favorisée par une croissance rapide, puisse prévenir le maintien d'une fécondité tardive relativement forte. Cette hypothèse devra être examinée de manière plus approfondie.

Enfin, comme observé lorsque les analyses étaient faites sur l'indice de sénescence, le temps de développement avait moins d'impact sur la reproduction lorsque l'analyse était faite directement sur les fécondités précoces et tardives. Cela pourrait indiquer que c'est bien la capacité de prise de masse par unité de temps, plutôt que la durée écoulée, qui est l'élément qui influe le plus. Des effets du temps de développement n'ont été observés que dans l'analyse des lignées consanguines, qui présentent une gamme de masses en fin de croissance moins large que dans les expériences de modifications de l'environnement larvaire. Lorsque toutes les femelles étaient considérées, la vitesse de développement avait un effet similaire au taux de croissance, avec un temps de développement court accompagné d'une fécondité précoce plus forte et aucun effet sur la fécondité tardive. Lors de l'analyse des corrélations génétiques, le temps de développement était positivement lié à une fécondité tardive plus forte, conforme aux attentes de la théorie du soma jetable et surtout la théorie de la pléiotropie antagoniste (Williams, 1957). En effet, un investissement moindre dans le développement (temps de développement plus long), serait associé à un organisme plus durable, favorisant de meilleures performances tardives. Ainsi, sélectionner pour des temps de développement plus longs entraînerait la sélection de femelles plus fécondes en fin de vie, présentant ainsi une moindre sénescence reproductive.

D – Limites et perspectives

Comme expliqué plus tôt, l'une des limites, qui constitue aussi la perspective la plus accessible de cette partie de la thèse, est le fait de ne pas avoir considéré davantage de points de mesure de fécondité tardive, et idéalement, de ne pas avoir effectué des mesures régulières du nombre d'œufs pondus tout au long de la vie de nos femelles.

La seule mesure de fécondité pourrait également s'avérer insuffisante pour estimer la sénescence reproductive des femelles de *T. molitor*. J'ai pris en compte ici seulement une partie des éléments composant la reproduction et permettant de mesurer les performances (Lemaître et Gaillard, 2017). En effet, le nombre de larves écloses, qui est une mesure de fertilité similaire à celle de Jehan *et al.* (2020), ou encore l'attractivité des femelles vis-à-vis des mâles, la fréquence d'accouplement, etc., pourraient révéler plus de détails sur la sénescence reproductive des femelles de *T. molitor*.

Enfin, j'ai pris en compte uniquement les femelles dans cette analyse. Cependant, des données de plus en plus nombreuses montrent que les patrons de sénescence ne sont pas les mêmes entre sexes, y compris pour la sénescence reproductive (Brooks et Garratt, 2017 ; Metcalf, Roth et Graham, 2019 ; Jehan *et al.*, 2020 ; Bronikowski *et al.*, 2022). La mesure des performances reproductives des mâles pourrait notamment passer par le comptage des larves écloses des œufs pondus par les femelles avec lesquelles ils se sont accouplés (Jehan *et al.*, 2020). Cela nécessiterait de faire se reproduire chaque mâle avec plusieurs femelles ou de contrôler strictement la qualité des partenaires. Contrairement aux femelles, les mâles devraient maximiser leur fréquence d'accouplement au détriment potentiel de leur survie, alors que les femelles, comme nous avons pu le voir, misent davantage sur une survie plus longue permettant plus d'occasion de ponte. Cette stratégie des mâles sacrifiant pour la reproduction actuelle leur survie est notamment visible par leur investissement moindre dans l'immunité lorsque leur effort de reproduction est augmenté (Jehan *et al.*, 2020).

III – Vitesse de développement ou de croissance et sénescence actuarielle

A – *T. molitor* peut coupler de fortes durées de développement et de forts taux de croissance et une faible sénescence actuarielle

La sénescence actuarielle a été évaluée en mesurant la longévité, les probabilités de survie et en établissant des modèles de Gompertz établis à partir des mortalités âge-spécifiques au cours du stade adulte. La relation positive entre vitesse de croissance ou de développement et sénescence actuarielle est l'une des prédictions fondamentales des théories de la sénescence, en particulier la théorie du soma jetable (Kirkwood et Holliday, 1979), qui a été confirmée chez diverses espèces d'invertébrés et de vertébrés (Metcalfe et Monaghan, 2003, pour une revue globale ; Lemaître *et al.*, 2015, sur les vertébrés en milieu naturel ; Yuan *et al.*, 2023 sur les mammifères principalement).

Contrairement aux résultats obtenus pour la sénescence reproductive, ceux relatifs à la sénescence actuarielle ne concordent pas entre l'approche expérimentale, reposant sur la plasticité face à des conditions larvaires variables, et l'approche avec les lignées consanguines. Néanmoins, il y a un point commun entre les deux approches : leurs résultats ne vont pas dans le sens de la relation prédite par la théorie du soma jetable.

Ni le temps de développement, ni le taux de croissance des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions larvaires de température et d'humidité relative n'a eu d'effet sur leur longévité ou leurs probabilités de survie au cours de leur phase adulte. La taille avait un effet protecteur, qui s'amenuisait avec l'âge, sur les probabilités de survie, nous ramenant encore une fois à constater l'effet prépondérant de la masse adulte initiale sur les performances des *T. molitor* (Arrese et Soulages, 2010 ; Zanchi, Moret et Gillingham, 2019) (la masse étant extrêmement liée à leur taille). Bien que des modèles de Gompertz aient pu être adaptés sur les mortalités âge-spécifiques des adultes issus des larves ayant grandi dans différentes conditions larvaires de température et d'humidité relative, le peu de points disponibles (cinq au maximum en considérant les deux types de modifications ensemble) ne permet pas de tester formellement l'effet de la vitesse de développement ou de croissance sur les paramètres de sénescence actuarielle. Néanmoins, qualitativement, il semble que les

conditions correspondant aux optima d'élevage de l'espèce présentent le moins de sénescence actuarielle, prouvant l'importance des conditions environnementales lors du développement.

Quand tous les individus issus des lignées consanguines sont considérés, en total désaccord avec les hypothèses des modèles de sénescence, un temps de développement court et un fort taux de croissance étaient accompagnés d'une longévité accrue. Ces résultats ont été corroborés par l'étude des probabilités de survie via des régressions de Cox, qui ont montré que de forts paramètres de croissance ont des effets protecteurs en terme de survie (qui s'amenuisent cependant avec l'âge). Il n'est pas rare que la relation attendue entre développement et longévité soit absente (Zwaan, Bijlsma et Hoekstra, 1992 , 1995, chez *D. melanogaster*). Une relation inverse par rapport à l'attendu a également été observée, comme dans notre étude (Lints et Soliman, 1977), lorsque plusieurs populations de *Tribolium castaneum* ont été comparées. Le lien classiquement prédit par la théorie du soma jetable entre vitesse de développement/croissance et sénescence actuarielle est ainsi de plus en plus battu en brèche depuis quelques années (Maklakov, Rowe et Friberg, 2015 ; Maklakov et Chapman, 2019), et notre étude va dans ce sens. Il semble que les compromis pourraient être découplés ou reposer sur des réseaux plus complexes que prévu (Boggs, 2009 ; Cohen, Isaksson et Salguero-Gómez, 2017). Ces auteurs proposent notamment que les compromis varieraient avec différents facteurs, en particulier l'âge, et pourraient reposer sur différents types de ressources. Maklakov, Rowe et Friberg (2015) proposent par exemple, via une théorie de l'accumulation de mutation modifiée, que, dans certaines conditions, des pléiotropies positives entre performances précoces et tardives peuvent apparaître.

Néanmoins, et de manière contradictoire, une corrélation génétique négative a été identifiée entre le taux de croissance et la longévité dans notre étude. De même, il semble exister une corrélation génétique positive entre taux de croissance et indice de sénescence actuarielle. Ces deux corrélations vont dans le sens d'une sénescence accrue quand l'investissement dans la croissance est plus grand, conforme avec les théories de la sénescence, comme celle du soma jetable ou de la pléiotropie antagoniste et allant à l'encontre d'une explication des résultats précédents passant par une pléiotropie positive.

Dans ces cas encore, la taille ou la masse semble jouer un rôle crucial dans la sénescence actuarielle. En effet, la longévité augmentait en fonction d'une augmentation de la masse

nymphale, et de grandes tailles adultes avaient un effet protecteur pour la survie. La masse atteinte en fin de croissance pourrait donc avoir un effet protecteur plus fort que le coût de la vitesse de développement/croissance. De plus, comme déjà évoqué, les *T. molitor* de nos expériences étaient maintenus dans des conditions très protégées. Il est en effet possible que la relation entre vitesse de développement/croissance et sénescence actuarielle ne se révèle que dans des conditions plus stressantes. Dans ces conditions, la contradiction apparente entre nos mesures de corrélations génétiques et nos mesures phénotypiques pourrait venir d'un effet confondant de la masse des individus dans les dernières analyses, qui masqueraient les effets négatifs de forts investissements dans la croissance sur la survie.

B – Limites et perspectives

Dans un premier temps, les modélisations effectuées à partir des mortalités âge-spécifiques sont sous-exploitées ici. D'autres modèles, comme le modèle de Weibull (Carey, 2001 ; Ricklefs et Scheuerlein, 2002) devront être testés pour s'assurer de la robustesse des résultats obtenus. Comme pour la sénescence reproductive, je n'ai pas considéré ici l'effet du sexe sur l'influence du temps de développement ou du taux de croissance sur la sénescence actuarielle. Or, les patrons de sénescence peuvent être différents et donner de précieuses informations sur ce qui les influencent (Metcalf, Roth et Graham, 2019). Ces analyses complémentaires devront donc être menées afin d'affiner mes résultats.

IV – Investissement dans le développement et sénescence immunitaire

Je ne pourrais pas ici comparer les résultats des deux approches, car l'influence de la vitesse de développement sur l'immunité n'a pas été testée de manière satisfaisante sur les lignées consanguines.

Afin d'étudier l'effet de la vitesse de développement sur l'immunité au cours de la vie de *T. molitor*, l'immunité des adultes issus des larves placées dans les différentes conditions de température et d'humidité relative a été mesurée tôt dans leur vie et plus tard. Comme pour la sénescence reproductive, l'âge des mesures tardive est antérieur au début de l'augmentation de la mortalité, pour éviter tout phénomène de disparition sélective.

Pour cet aspect de la sénescence, j'ai concentré mon analyse sur le temps de développement. En effet, le temps mis à atteindre l'âge adulte présente a priori une contrainte plus forte que le taux de croissance en raison de la durée potentielle d'exposition potentielle à des pathogènes pendant la phase larvaire, phase très vulnérable. Étant donné que l'immunité est une fonction complexe reposant principalement chez les insectes sur trois composantes (défenses cellulaires, activité du système proPO/PO et activité antibactérienne), nous les avons abordées toutes les trois. La base de notre raisonnement était qu'un temps de développement long, mais également une longévité importante, accroît les risques d'exposition aux pathogènes. Ainsi, l'optimisation des traits d'histoire de vie devrait favoriser les composantes permettant une immunité sur le long terme comme l'activité antibactérienne sur laquelle repose le phénomène de priming (Vigneron *et al.*, 2019 ; Sheehan, Farrell et Kavanagh, 2020 ; Kojour *et al.*, 2022). Au contraire, les individus au développement rapide et/ou à vie plus courte devraient investir davantage dans des mécanismes plus rapides à mettre en place, comme le système proPO/PO (Haine, Pollitt, *et al.*, 2008), mais induisant des dommages à l'organisme (Sadd et Siva-Jothy, 2006 ; Khan, Agashe et Rolff, 2017).

Ce type de relation a bien été trouvé dans nos expériences. Pour l'activité antibactérienne tous les résultats ont été concordants entre les deux types de modification environnementales. Lorsque nous avons manipulé la température d'élevage des larves, la longévité n'a pas été corrélée aux défenses cellulaires, alors que les autres composantes ont toutes été affectées. Par contre, les manipulations de l'humidité relative n'ont pas permis de mettre en évidence d'effets du temps de développement ou de la longévité sur les défenses cellulaires ou l'activité du système proPO/PO.

L'investissement des *T. molitor* dans les réponses reposant sur les défenses cellulaires et l'activité antibactérienne dépend de l'âge et du temps de développement. L'effet de l'âge montre que ces deux composantes sont soumises à la sénescence, ce qui n'avait pas été observé précédemment dans le cas de l'activité antibactérienne (Moret et Schmid-Hempel, 2009, chez *Bombus terrestris* ; Jehan *et al.*, 2020, chez *T. molitor*). Cependant, nous montrons que cet effet est modulé par le temps de développement. L'investissement dans les défenses cellulaires et l'activité antibactérienne était plus fort chez les jeunes *T. molitor* ayant mis le plus de temps à se développer. Ces individus présentent, contrairement à ce que j'aurais attendu, plus de sénescence sur ces deux composantes de l'immunité. Cependant, ce résultat

vient, pour la composante cellulaire, d'un plus fort investissement précoce, puisque la composante cellulaire est la même plus tard dans la vie, quel que soit le temps de développement. Pour l'activité antibactérienne, la sénescence plus forte des individus les plus longs à se développer vient à la fois de performances précoces plus grande et de performances tardives plus faibles que leurs congénères plus rapides.

Un résultat intéressant est celui obtenu sur le système proPO/PO. En effet, indépendamment de l'âge, les individus au développement le plus rapide ont présenté les réponses les plus fortes sur cette composante de l'immunité. L'intérêt de ce résultat ne porte pas sur la sénescence de cette composante, puisque ne n'en montrons pas. Par contre, cet effet pourrait être la pièce manquante dans le lien entre stress et sénescence (reproductive ou actuarielle) que nous avons discuté plus haut. En effet, l'utilisation du système proPO/PO est connu pour produire des dommages à l'organisme (Sadd et Siva-Jothy, 2006 ; Khan, Agashe et Rolff, 2017). Dans des conditions écologiques, les individus seraient davantage soumis à des sollicitations du système immunitaire (de par la présence des congénères et/ou les plus forts risques d'infection). Comme les individus au développement le plus rapide sont ceux qui investissent davantage dans le système proPO/PO, ce sont eux qui accumuleraient le plus de dommages, ce qui les conduirait à une plus forte sénescence reproductive et actuarielle (en particulier dans le cadre de la théorie du soma jetable où les dommages à l'organisme non réparés sont la principale source du déclin de l'organisme (Kirkwood et Holliday, 1979)).

D – Limites et perspectives

La limite principale par rapport à notre démarche globale est l'absence d'une étude sur l'influence du temps de développement sur la sénescence immunitaire en utilisant les lignées consanguines. En leur absence, les résultats présentés ici sont moins robustes (en tout cas moins œcuméniques) et pourraient découler d'un effet direct de la température plutôt que de la vitesse de développement. De plus, cette étude n'aurait pas pu être menée sur les 17 lignées. Cela aurait nécessité de multiplier par trois les effectifs déjà étudiés, car les mesures d'immunité et celles relatives à la reproduction ne peuvent pas être effectuées sur les mêmes individus. Pour consolider les conclusions sur l'investissement dans les composantes immunitaires et leur sénescence en fonction de la vitesse de développement, une approche utilisant des lignées maintenant identifiées comme lentes ou rapides serait nécessaire. Cela

permettrait également, dans une démarche similaire à celle de Letendre *et al.* (2022) d'établir les corrélations génétiques entre traits d'histoire de vie de développement et de croissance et traits immunitaires. Une telle démarche a été entamée au cours de cette thèse mais n'a pas abouti à des résultats satisfaisants en raison d'un problème intervenu en cours d'expérience (attaque de prédateurs murins). Il sera nécessaire de recommencer.

Comme pour les autres aspects de la sénescence, je n'ai pas considéré ici les différences entre les sexes. Or ce dernier est connu pour avoir un effet sur l'immunité (Metcalf, Roth et Graham, 2019 ; Jehan *et al.*, 2020).

Cette étude a impliqué une analyse en composante principale (ACP) afin de résumer les différentes mesures immunitaires en trois valeurs correspondant aux trois types de composantes de l'immunité chez *T. molitor* (Vigneron *et al.*, 2019). Néanmoins, la considération des différentes mesures séparément pourrait apporter davantage d'information sur les stratégies immunitaires de *T. molitor* en fonction de son investissement dans le développement. Jehan *et al.* (2022) ont, par exemple, montré des différences au sein des types d'hémocytes en fonction de l'investissement reproductif des *T. molitor*. En outre, les types d'hémocytes n'entrent pas tous en jeu dans les mêmes mécanismes de réponse (Vigneron *et al.*, 2019). Les plasmotocytes, notamment, participent à l'encapsulation, un mécanisme impliquant également le système proPO/PO (Vigneron *et al.*, 2019). De plus, je n'ai considéré ici que des mesures physiologiques, alors qu'ajouter des mesures d'efficacité du système immunitaire comme des tests de survie, de clairance ou d'encapsulation (Armitage *et al.*, 2003 ; Rantala et Roff, 2005 ; Haine, Moret, *et al.*, 2008 ; Krams *et al.*, 2013 ; Letendre *et al.*, 2022), permettrait de déterminer si les *T. molitor* se placent sur des stratégies de tolérance ou de résistance.

Conclusion

Au cours de cette thèse, grâce à des approches complémentaires, j'ai montré que l'investissement dans la croissance avait des conséquences sur les traits d'histoire de vie tardifs de *T. molitor*. Cependant, ces conséquences ne correspondaient pas toujours à ce qui était prédit par la théorie du soma jetable. Ainsi, conformément aux attentes de cette théorie de la sénescence, un investissement dans une croissance rapide lors de la phase larvaire de *T. molitor* a entraîné une sénescence reproductive plus prononcée. Ceci a été observé

indépendamment de l'approche utilisée (approches phénotypiques et approche génétique). Cependant, il faut noter que cette sénescence était partiellement attribuable à une fécondité précoce plus élevée. Paradoxalement, cela ne s'est pas traduit, dans la gamme d'âge mesurée, par une diminution de la fécondité tardive. De plus, contrairement aux prédictions de la théorie du soma jetable, les *T. molitor* présentant le développement le plus court ou la croissance la plus forte ne payaient pas de coût en termes de longévité ou de probabilité de survie. Ces résultats inattendus pourraient découler de la qualité individuelle, telle que mesurée par la taille et la masse. Cependant, bien que ces analyses phénotypiques ne soutiennent pas l'idée d'un antagonisme entre croissance et survie, les corrélations génétiques révèlent au contraire un tel antagonisme. Ainsi, la qualité individuelle pourrait masquer les effets délétères tardifs de l'investissement dans la croissance, en particulier dans les conditions relativement peu stressantes (sans compétition, nourriture *ad libitum*, peu de risques de blessures ou d'infection, etc.) de mes expériences. Enfin, l'immunité semble jouer un rôle clé dans la compréhension des mécanismes sous-jacents à la sénescence de *T. molitor*. En effet, les différents niveaux d'investissement dans la croissance n'impactent pas de la même manière les différentes composantes de l'immunité. Ces variations ont des conséquences différentes en termes de dommages à l'organisme, ce qui suggère que des différences dans l'investissement dans la croissance pourraient influencer la sénescence via leurs effets sur l'immunité.

Pour aller plus loin ...

J'ai déjà évoqué quelques limites et perspectives à mes études dans les sous-parties précédentes. Je n'y reviendrais que brièvement : (i) Sur la sénescence reproductive et les performances reproductives en général, j'ai déjà souligné l'intérêt d'obtenir la trajectoire complète de sénescence et mentionné les difficultés potentielles liées à la disparition sélective lorsque l'on adopte une approche basée sur des mesures tout au long de la vie ; (ii) Pour ce qui est de l'immunité, un complément expérimental utilisant les lignées consanguines serait nécessaire pour consolider mes résultats et conclusions.

Toutes les données collectées lors des deux expériences que j'ai réalisées n'ont pas pu être analysées dans cette thèse. J'ai choisi de me concentrer spécifiquement sur la question de l'effet de l'investissement dans le développement et la croissance sur la sénescence

(reproductive, actuarielle et immunitaire). Cependant, je n'ai pas exploré les différences entre les sexes. Il est à noter que la plupart des études qui ont examiné les différences entre les sexes dans le contexte de l'étude de la sénescence ont identifié une disparité significative (Hayward *et al.*, 2015 ; Khan, Prakash et Agashe, 2016 ; Tompkins et Anderson, 2019 ; Jehan *et al.*, 2020). Les données étant disponibles, les analyses sur ce sujet pourront être effectuées après la thèse. De plus, comme nous avons pu le voir, la masse (ou la taille), assimilable à la qualité des individus, s'est révélée être une variable explicative importante pour les trois aspects de la sénescence que j'ai étudiés. J'ai d'ailleurs proposé que dans des conditions peu stressantes, elle pourrait masquer les effets de la croissance sur la sénescence. En complément des résultats exposés ici, j'ai recueilli des mesures hebdomadaires de la masse jusqu'à la mort des individus. Une fois analysées, ces mesures pourraient permettre de vérifier le lien entre la masse et la longévité, mais aussi d'établir un lien entre le taux de croissance et le maintien des réserves (et donc de la masse). Ceci permettrait de contrôler la qualité des individus. Ceci nous donnerait également la possibilité de déterminer si certains individus maintiennent cette qualité tout au long de leur vie, afin de vérifier mon hypothèse selon laquelle les larves qui prennent le plus rapidement de la masse deviennent des adultes en perdant le moins (ou qui en reprennent le plus rapidement), maintenant ainsi une qualité élevée.

Enfin, dans cette thèse, je me suis principalement focalisée sur la théorie du soma jetable. Néanmoins, d'autres théories, comme celle de l'hyperfonction (Blagosklonny, 2012) ou la théorie développementale de la sénescence (de Magalhães et Church, 2005) proposent également des liens entre développement/croissance et sénescence. Certains de mes résultats, où croissance et sénescence semblent découplées, pourraient suggérer la nécessité d'explorer davantage ces pistes. En effet, des mesures d'activité des voies métaboliques participant à la croissance pourraient fournir davantage d'informations (Barbieri *et al.*, 2003 ; Lind *et al.*, 2019).

Références

- Abrams, P.A., 1993. Does Increased Mortality Favor the Evolution of More Rapid Senescence? *Evolution* 47, 877–887. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1993.tb01241.x>
- Adamo, S.A., Jensen, M., Younger, M., 2001. Changes in lifetime immunocompetence in male and female *Gryllus texensis* (formerly *G. integer*): trade-offs between immunity and reproduction. *Animal Behaviour* 62, 417–425. <https://doi.org/10.1006/anbe.2001.1786>
- Adamo, S.A., Lovett, M.M.E., 2011. Some like it hot: the effects of climate change on reproduction, immune function and disease resistance in the cricket *Gryllus texensis*. *Journal of Experimental Biology* 214, 1997–2004. <https://doi.org/10.1242/jeb.056531>
- Allard, J., Duan, C., 2011. Comparative Endocrinology of Aging and Longevity Regulation. *Frontiers in Endocrinology* 2, 75.
- Amaro-Sánchez, T., Ruiz-Guzmán, G., Hernández-Martínez, S., Krams, I., Rantala, M.J., Contreras-Garduño, J., 2023. Effect of juvenile hormone on phenoloxidase and hemocyte number: The role of age, sex, and immune challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 265, 110827. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2023.110827>
- Anavatan, A., Karaöz, M., 2013. Cox regression models with time-varying covariates applied to survival success of young firms.
- Angell, C.S., Oudin, M.J., Rode, N.O., Mautz, B.S., Bonduriansky, R., Rundle, H.D., 2020. Development time mediates the effect of larval diet on ageing and mating success of male antler flies in the wild. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 287, 20201876. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.1876>
- Arendt, J.D., 1997. Adaptive Intrinsic Growth Rates: An Integration Across Taxa. *The Quarterly Review of Biology* 72, 149–177. <https://doi.org/10.1086/419764>
- Armitage, S. a. O., Thompson, J.J.W., Rolff, J., Siva-Jothy, M.T., 2003. Examining costs of induced and constitutive immune investment in *Tenebrio molitor*. *Journal of Evolutionary Biology* 16, 1038–1044. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2003.00551.x>
- Arrese, E.L., Soulages, J.L., 2010. Insect Fat Body: Energy, Metabolism, and Regulation. *Annual Review of Entomology* 55, 207–225. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085356>
- Barbieri, M., Bonafè, M., Franceschi, C., Paolisso, G., 2003. Insulin/IGF-I-signaling pathway: an evolutionarily conserved mechanism of longevity from yeast to humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 285, E1064–E1071. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00296.2003>
- Barja, G., 2004. Aging in vertebrates, and the effect of caloric restriction: a mitochondrial free radical production–DNA damage mechanism? *Biological Reviews* 79, 235–251. <https://doi.org/10.1017/S1464793103006213>
- Barker, D.J.P., Forsén, T., Eriksson, J.G., Osmond, C., 2002. Growth and living conditions in childhood and hypertension in adult life: a longitudinal study. *Journal of Hypertension* 20, 1951–1956.
- Barnes, A.I., Siva-Jothy, M.T., 2000. Density-dependent prophylaxis in the mealworm beetle *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae): cuticular melanization is an indicator of investment in immunity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 267, 177–182. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.0984>
- Bartke, A., Sun, L.Y., Longo, V., 2013. Somatotrophic Signaling: Trade-Offs Between Growth, Reproductive Development, and Longevity. *Physiological Reviews* 93, 571–598. <https://doi.org/10.1152/physrev.00006.2012>
- Bates, D., Maechler, M., Bolker [aut, B., cre, Walker, S., Christensen, R.H.B., Singmann, H., Dai, B., Scheipl, F., Grothendieck, G., Green, P., Fox, J., Bauer, A., simulate.formula), P.N.K. (shared copyright on, 2023. lme4: Linear Mixed-Effects Models using “Eigen” and S4.
- Baudisch, A., 2005. Hamilton’s indicators of the force of selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102, 8263–8268. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502155102>
- Baudisch, A., Salguero-Gómez, R., Jones, O.R., Wrycza, T., Mbeau-Ache, C., Franco, M., Colchero, F., 2013. The pace and shape of senescence in angiosperms. *Journal of Ecology* 101, 596–606. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12084>

- Becker, W.A., 1984. Manual of quantitative genetics. Academic Enterprises. Pullman, Washington.
- Beckman, K.B., Ames, B.N., 1998. The Free Radical Theory of Aging Matures. *Physiological Reviews* 78, 547–581. <https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.2.547>
- Bjørge, J.D., Overgaard, J., Malte, H., Gianotten, N., Heckmann, L.-H., 2018. Role of temperature on growth and metabolic rate in the tenebrionid beetles *Alphitobius diaperinus* and *Tenebrio molitor*. *Journal of Insect Physiology* 107, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2018.02.010>
- Blagosklonny, M.V., 2021. The hyperfunction theory of aging: three common misconceptions. *Oncoscience* 8, 103–107. <https://doi.org/10.18632/oncoscience.545>
- Blagosklonny, M.V., 2012. Answering the ultimate question “What is the Proximal Cause of Aging?” *Aging (Albany NY)* 4, 861–877.
- Boggs, C.L., 2009. Understanding insect life histories and senescence through a resource allocation lens. *Functional Ecology* 23, 27–37. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01527.x>
- Brody, S., 1927. Growth and development with special reference to domestic animals. X, The relation between the course of growth and the course of senescence with special reference to age change in milk secretion. University of Missouri, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station.
- Bronikowski, A.M., Meisel, R.P., Biga, P.R., Walters, J.R., Mank, J.E., Larschan, E., Wilkinson, G.S., Valenzuela, N., Conard, A.M., de Magalhães, J.P., Duan, J. (Ellie), Elias, A.E., Gamble, T., Graze, R.M., Gribble, K.E., Kreiling, J.A., Riddle, N.C., 2022. Sex-specific aging in animals: Perspective and future directions. *Aging Cell* 21, e13542. <https://doi.org/10.1111/accel.13542>
- Brooks, R.C., Garratt, M.G., 2017. Life history evolution, reproduction, and the origins of sex-dependent aging and longevity. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1389, 92–107. <https://doi.org/10.1111/nyas.13302>
- Carey, J., 2001. Insect biodemography. *Annual review of entomology* 46, 79–110. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.46.1.79>
- Carey, J.R., 1998. Population study of mortality and longevity with Gompertzian analysis, in: *Methods in Ageing Research*. FL: CRC Press, Boca Raton, pp. 3–24.
- Carey, J.R., Judge, D.S., 2000. Mortality Dynamics of Aging. *Generations: Journal of the American Society on Aging* 24, 19–24.
- Carey, J.R., Liedo, P., 1995. Sex Mortality Differentials and Selective Survival in Large Medfly Cohorts: Implications for Human Sex Mortality Differentials1. *The Gerontologist* 35, 588–596. <https://doi.org/10.1093/geront/35.5.588>
- Carey, J.R., Liedo, P., Orozco, D., Vaupel, J.W., 1992. Slowing of Mortality Rates at Older Ages in Large Medfly Cohorts. *Science* 258, 457–461. <https://doi.org/10.1126/science.1411540>
- Caswell, H., 2007. Extrinsic mortality and the evolution of senescence. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 173–174. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.01.006>
- Cerenius, L., Lee, B.L., Söderhäll, K., 2008. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. *Trends in Immunology* 29, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.02.009>
- Chae, J.-H., Kurokawa, K., So, Y.-I., Hwang, H.O., Kim, M.-S., Park, J.-W., Jo, Y.-H., Lee, Y.S., Lee, B.L., 2012. Purification and characterization of tenecin 4, a new anti-Gram-negative bacterial peptide, from the beetle *Tenebrio molitor*. *Developmental & Comparative Immunology* 36, 540–546. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.09.010>
- Chan, S.R.W.L., Blackburn, E.H., 2004. Telomeres and telomerase. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 359, 109–122. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1370>
- Chapman, N.M., Chi, H., 2022. Metabolic adaptation of lymphocytes in immunity and disease. *Immunity* 55, 14–30. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.012>

- Charlesworth, B., 2000. Fisher, Medawar, Hamilton and the Evolution of Aging. *Genetics* 156, 927–931. <https://doi.org/10.1093/genetics/156.3.927>
- Charlesworth, B., 1993. Evolutionary mechanisms of senescence. *Genetica* 91, 11–19. <https://doi.org/10.1007/BF01435984>
- Chung, K.-H., Moon, M.-J., 2004. Fine Structure of the Hemopoietic Tissues in the Mealworm Beetle, *Tenebrio molitor*. *Entomological Research* 34, 131–138. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2004.tb00102.x>
- Cichoń, M., 1997. Evolution of longevity through optimal resource allocation. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 264, 1383–1388. <https://doi.org/10.1098/rspb.1997.0192>
- Clutton-Brock, T.H., 1984. Reproductive Effort and Terminal Investment in Iteroparous Animals. *The American Naturalist* 123, 212–229. <https://doi.org/10.1086/284198>
- Cohen, A.A., Coste, C.F.D., Li, X.-Y., Bourg, S., Pavard, S., 2019. Are trade-offs really the key drivers of ageing and life span? *Functional Ecology* 34, 153–166. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13444>
- Cohen, A.A., Isaksson, C., Salguero-Gómez, R., 2017. Co-existence of multiple trade-off currencies shapes evolutionary outcomes. *PLOS ONE* 12, e0189124. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189124>
- Cohen, A.A., Legault, V., Fülöp, T., 2020. What if there's no such thing as "aging"? Mechanisms of Ageing and Development 192, 111344. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111344>
- Comfort, A., 1979. *The Biology of Senescence*, 3rd ed. Elsevier.
- Cooper, E.B., Kruuk, L.E.B., 2018. Ageing with a silver-spoon: A meta-analysis of the effect of developmental environment on senescence. *Evolution Letters* 2, 460–471. <https://doi.org/10.1002/evl3.79>
- Cotter, S.C., Myatt, J.P., Benskin, C.M.H., Wilson, K., 2008. Selection for cuticular melanism reveals immune function and life-history trade-offs in *Spodoptera littoralis*. *Journal of Evolutionary Biology* 21, 1744–1754. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01587.x>
- Cotter, S.C., Simpson, S.J., Raubenheimer, D., Wilson, K., 2011. Macronutrient balance mediates trade-offs between immune function and life history traits. *Functional Ecology* 25, 186–198. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01766.x>
- Crosland, A., Rigaud, T., Balourdet, A., Moret, Y., 2022. "Born with a silver spoon in the mouth has bad sides too": Experimentally increasing growth rate enhances individual quality but accelerates reproductive senescence in females of the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Frontiers in Ecology and Evolution* 10.
- Daukšte, J., Kivleniece, I., Krama, T., Rantala, M.J., Krams, I., 2012. Senescence in immune priming and attractiveness in a beetle. *Journal of Evolutionary Biology* 25, 1298–1304. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02516.x>
- David, J.R., Gibert, P., Legout, H., Pétavy, G., Capy, P., Moreteau, B., 2005. Isofemale lines in *Drosophila*: an empirical approach to quantitative trait analysis in natural populations. *Heredity* 94, 3–12. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800562>
- Day, T., Abrams, P.A., 2020. Density Dependence, Senescence, and Williams' Hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution* 35, 300–302. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.11.005>
- de Magalhães, J.P., Church, G.M., 2005. Genomes Optimize Reproduction: Aging as a Consequence of the Developmental Program. *Physiology* 20, 252–259. <https://doi.org/10.1152/physiol.00010.2005>
- Dhinaut, J., Chogne, M., Moret, Y., 2018. Immune priming specificity within and across generations reveals the range of pathogens affecting evolution of immunity in an insect. *Journal of Animal Ecology* 87, 448–463. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12661>
- Dick, J., 1937. Oviposition in Certain Coleoptera. *Annals of Applied Biology* 24, 762–796. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1937.tb05055.x>

- Dmitriew, C.M., 2011. The evolution of growth trajectories: what limits growth rate? *Biological Reviews* 86, 97–116. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2010.00136.x>
- Drenos, F., Kirkwood, T.B.L., 2005. Modelling the disposable soma theory of ageing. *Mechanisms of Ageing and Development, Functional Genomics of Ageing II* 126, 99–103. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2004.09.026>
- Drnevich, J.M., Papke, R.S., Rauser, C.L., Rutowski, R.L., 2001. Material Benefits from Multiple Mating in Female Mealworm Beetles (*Tenebrio molitor* L.). *Journal of Insect Behavior* 14, 215–230. <https://doi.org/10.1023/A:1007889712054>
- Dudycha, J.L., Tessier, A.J., 1999. Natural Genetic Variation of Life Span, Reproduction, and Juvenile Growth in *Daphnia*. *Evolution* 53, 1744–1756. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb04559.x>
- Dupont-Prinet, A., Chatain, B., Grima, L., Vandeputte, M., Claireaux, G., McKenzie, D.J., 2010. Physiological mechanisms underlying a trade-off between growth rate and tolerance of feed deprivation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Experimental Biology* 213, 1143–1152. <https://doi.org/10.1242/jeb.037812>
- Edward, D.A., Chapman, T., 2011. Mechanisms underlying reproductive trade-offs: Costs of reproduction, in: *Mechanisms of Life History Evolution*. Oxford University Press, New York, NY, pp. 137–152.
- Eleftheriou, E., Vacherie, B., Labadie, K., Athanassiou, C. g., Rigaud, T., Moret, Y., Lefebvre, T., Madoui, Ma., 2022. 616. *Tenebrio molitor* genomic structure among available populations, in: *Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP)*. Wageningen Academic Publishers, pp. 2549–2551. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-940-4_616
- Fedorka, K.M., Lee, V., Winterhalter, W.E., 2013. Thermal environment shapes cuticle melanism and melanin-based immunity in the ground cricket *Allonemobius socius*. *Evol Ecol* 27, 521–531. <https://doi.org/10.1007/s10682-012-9620-0>
- Finch, C.E., 1994. *Longevity, Senescence, and the Genome*, The John D. and Catherine T. MacArthur Foundation Series on Mental Health and Development. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Fisher, R.A., 1930. *The genetical theory of natural selection*, 2nd ed. The Clarendon press, New York.
- Flatt, T., 2011. Survival costs of reproduction in *Drosophila*. *Experimental Gerontology, Aging studies in Drosophila melanogaster* 46, 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.10.008>
- Flatt, T., Amdam, G.V., Kirkwood, T.B.L., Omholt, S.W., 2013. Life-History Evolution and the Polyphenic Regulation of Somatic Maintenance and Survival. *The Quarterly Review of Biology* 88, 185–218. <https://doi.org/10.1086/671484>
- Flatt, T., Partridge, L., 2018. Horizons in the evolution of aging. *BMC Biology* 16, 93. <https://doi.org/10.1186/s12915-018-0562-z>
- Flatt, T., Tu, M.-P., Tatar, M., 2005. Hormonal pleiotropy and the juvenile hormone regulation of *Drosophila* development and life history. *BioEssays* 27, 999–1010. <https://doi.org/10.1002/bies.20290>
- Fox, J., Weisberg, S., Price, B., Adler, D., Bates, D., Baud-Bovy, G., Bolker, B., Ellison, S., Firth, D., Friendly, M., Gorjanc, G., Graves, S., Heiberger, R., Krivitsky, P., Laboissiere, R., Maechler, M., Monette, G., Murdoch, D., Nilsson, H., Ogle, D., Ripley, B., Short, T., Venables, W., Walker, S., Winsemius, D., Zeileis, A., R-Core, 2023. *car: Companion to Applied Regression*.
- Fukui, H.H., Xiu, L., Curtsinger, J.W., 1993. Slowing of age-specific mortality rates in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology* 28, 585–599. [https://doi.org/10.1016/0531-5565\(93\)90048-I](https://doi.org/10.1016/0531-5565(93)90048-I)
- Gaillard, J.-M., Lemaître, J.-F., 2017. The Williams' legacy: A critical reappraisal of his nine predictions about the evolution of senescence. *Evolution* 71, 2768–2785. <https://doi.org/10.1111/evo.13379>
- Gaillard, J.-M., Lemaître, J.-F., Berger, V., Bonenfant, C., Devillard, S., Douhard, M., Gamelon, M., Plard, F., Lebreton, J.-D., 2016. Life Histories, Axes of Variation, in: *Encyclopedia of Evolutionary Biology*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800049-6.00085-8>

- Gaillard, J.-M., Viallefont, A., Loison, A., Festa-Bianchet, M., 2004. Assessing senescence patterns in populations of large mammals | *Animal Biodiversity and Conservation*. *Animal Biodiversity and Conservation* 27, 47–58.
- Galipaud, M., Gillingham, M.A.F., Dechaume-Moncharmont, F.-X., 2017. A farewell to the sum of Akaike weights: The benefits of alternative metrics for variable importance estimations in model selection. *Methods in Ecology and Evolution* 8, 1668–1678. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12835>
- Garcia, M.B., Dahlgren, J.P., Ehrlén, J., 2011. No evidence of senescence in a 300-year-old mountain herb. *Journal of Ecology* 99, 1424–1430. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2011.01871.x>
- Gems, D., 2022. The hyperfunction theory: An emerging paradigm for the biology of aging. *Ageing Research Reviews* 74, 101557. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101557>
- Gems, D., Partridge, L., 2013. Genetics of Longevity in Model Organisms: Debates and Paradigm Shifts. *Annual Review of Physiology* 75, 621–644. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-030212-183712>
- Gerschman, R., Gilbert, D.L., Nye, S.W., Dwyer, P., Fenn, W.O., 1954. Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common. *Science* 119, 623–626. <https://doi.org/10.1126/science.119.3097.623>
- Ghaly, A.E., Alkoaik, F.N., 2009. The yellow mealworm as a novel source of protein. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 4, 319–331.
- Gillooly, J.F., Brown, J.H., West, G.B., Savage, V.M., Charnov, E.L., 2001. Effects of Size and Temperature on Metabolic Rate. *Science* 293, 2248–2251. <https://doi.org/10.1126/science.1061967>
- Gladyshev, V.N., 2016. Aging: progressive decline in fitness due to the rising deleteriome adjusted by genetic, environmental, and stochastic processes. *Aging Cell* 15, 594–602. <https://doi.org/10.1111/accel.12480>
- Gladyshev, V.N., Kritchevsky, S.B., Clarke, S.G., Cuervo, A.M., Fiehn, O., de Magalhães, J.P., Mau, T., Maes, M., Moritz, R.L., Niedernhofer, L.J., Van Schaftingen, E., Tranah, G.J., Walsh, K., Yura, Y., Zhang, B., Cummings, S.R., 2021. Molecular damage in aging. *Nature Aging* 1, 1096–1106. <https://doi.org/10.1038/s43587-021-00150-3>
- Gompertz, B., 1825. XXIV. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. In a letter to Francis Baily, Esq. F. R. S. &c. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 115, 513–583. <https://doi.org/10.1098/rstl.1825.0026>
- Grafen, A., 1988. On the uses of data on lifetime reproductive success, in: *Reproductive Success* (Ed. T. H. Clutton-Brock). Chicago, IL, pp. 454–471.
- Grau, T., Vilcinskas, A., Joop, G., 2017. Sustainable farming of the mealworm *Tenebrio molitor* for the production of food and feed. *Zeitschrift für Naturforschung C* 72, 337–349. <https://doi.org/10.1515/znc-2017-0033>
- Green, W.C.H., Rothstein, A., 1991. Trade-offs between growth and reproduction in female bison. *Oecologia* 86, 521–527. <https://doi.org/10.1007/BF00318318>
- Gupta, A.P., Sutherland, D.J., 1966. In vitro transformations of the insect plasmatocyte in some insects. *Journal of Insect Physiology* 12, 1369–1375. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(66\)90151-X](https://doi.org/10.1016/0022-1910(66)90151-X)
- Haine, E.R., Moret, Y., Siva-Jothy, M.T., Rolff, J., 2008. Antimicrobial Defense and Persistent Infection in Insects. *Science* 322, 1257–1259. <https://doi.org/10.1126/science.1165265>
- Haine, E.R., Pollitt, L.C., Moret, Y., Siva-Jothy, M.T., Rolff, J., 2008. Temporal patterns in immune responses to a range of microbial insults (*Tenebrio molitor*). *Journal of Insect Physiology* 54, 1090–1097. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.04.013>
- Haldane, J.S., 1941. *New Paths in Genetics*, 1st ed. Allen & Unwin, London.
- Hamilton, W.D., 1966. The moulding of senescence by natural selection. *Journal of Theoretical Biology* 12, 12–45. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(66\)90184-6](https://doi.org/10.1016/0022-5193(66)90184-6)
- Hardouin, J., Mahoux, G., 2003. Zootechnie d'insectes - Elevage et utilisation au bénéfice de l'homme et de certains animaux [WWW Document]. URL <https://docplayer.fr/22063218-Zootechnie-d-insectes-elevage-et-utilisation-au-benefice-de-l-homme-et-de-certains-animaux.html> (accessed 3.15.22).

- Harman, D., 1956. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Journal of Gerontology* 11, 298–300.
- Harrell, F.E., 2015. Cox Proportional Hazards Regression Model, in: Harrell, Jr., Frank E. (Ed.), *Regression Modeling Strategies: With Applications to Linear Models, Logistic and Ordinal Regression, and Survival Analysis*, Springer Series in Statistics. Springer International Publishing, Cham, pp. 475–519. https://doi.org/10.1007/978-3-319-19425-7_20
- Hassall, C., Sherratt, T.N., Watts, P.C., Thompson, D.J., 2015. Live fast, die old: no evidence of reproductive senescence or costs of mating in a damselfly (Odonata: Zygoptera). *Journal of Animal Ecology* 84, 1542–1554. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12407>
- Hayflick, L., Moorhead, P.S., 1961. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research* 25, 585–621. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(61\)90192-6](https://doi.org/10.1016/0014-4827(61)90192-6)
- Hayward, A.D., Moorad, J., Regan, C.E., Berenos, C., Pilkington, J.G., Pemberton, J.M., Nussey, D.H., 2015. Asynchrony of senescence among phenotypic traits in a wild mammal population. *Experimental Gerontology, Aging in the Wild: Insights from Free-Living and Non-Model organisms* 71, 56–68. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2015.08.003>
- Hayward, A.D., Wilson, A.J., Pilkington, J.G., Clutton-Brock, T.H., Pemberton, J.M., Kruuk, L.E.B., 2013. Reproductive senescence in female Soay sheep: variation across traits and contributions of individual ageing and selective disappearance. *Functional Ecology* 27, 184–195. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12029>
- Healy, K., Ezard, T.H.G., Jones, O.R., Salguero-Gómez, R., Buckley, Y.M., 2019. Animal life history is shaped by the pace of life and the distribution of age-specific mortality and reproduction. *Nature Ecology & Evolution* 3, 1217–1224. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-0938-7>
- Hoffmann, J.A., Reichhart, J.-M., Hetru, C., 1996. Innate immunity in higher insects. *Current Opinion in Immunology* 8, 8–13. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(96\)80098-7](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(96)80098-7)
- Holmes, L.A., Nelson, W.A., Lougheed, S.C., 2019. Food quality effects on instar-specific life histories of a holometabolous insect. *Ecology and Evolution* 10, 626–637. <https://doi.org/10.1002/ece3.5790>
- Honěk, A., 1993. Intraspecific Variation in Body Size and Fecundity in Insects: A General Relationship. *Oikos* 66, 483–492. <https://doi.org/10.2307/3544943>
- Hong, J., Han, T., Kim, Y.Y., 2020. Mealworm (*Tenebrio molitor* Larvae) as an Alternative Protein Source for Monogastric Animal: A Review. *Animals* 10, 2068. <https://doi.org/10.3390/ani10112068>
- Hooper, A.K., Spagopoulou, F., Wylde, Z., Maklakov, A.A., Bonduriansky, R., 2017. Ontogenetic timing as a condition-dependent life history trait: High-condition males develop quickly, peak early, and age fast. *Evolution* 71, 671–685. <https://doi.org/10.1111/evo.13172>
- Howe, R.W., 1956. The Effect of Temperature and Humidity on the Rate of Development and Mortality of *Tribolium Castaneum* (herbst) (coleoptera, Tenebrionidae). *Annals of Applied Biology* 44, 356–368. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1956.tb02128.x>
- Hughes, K.A., Reynolds, R.M., 2005. Evolutionary and Mechanistic Theories of Aging. *Annual Review of Entomology* 50, 421–445. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.50.071803.130409>
- Hunt, J., Brooks, R., Jennions, M.D., Smith, M.J., Bentsen, C.L., Bussière, L.F., 2004. High-quality male field crickets invest heavily in sexual display but die young. *Nature* 432, 1024–1027. <https://doi.org/10.1038/nature03084>
- Husson, F., Josse, J., Le, S., Mazet, J., 2023. FactoMineR: Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining.
- Jacobs, H.T., 2003. The mitochondrial theory of aging: dead or alive? *Aging Cell* 2, 11–17. <https://doi.org/10.1046/j.1474-9728.2003.00032.x>
- Janssens, L., Stoks, R., 2018. Rapid larval development under time stress reduces adult life span through increasing oxidative damage. *Functional Ecology* 32, 1036–1045. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13068>

- Jehan, C., 2020. Patrons de sénescence chez un insecte : interactions entre survie, reproduction et immunité (These de doctorat). Bourgogne Franche-Comté.
- Jehan, C., Chogne, M., Rigaud, T., Moret, Y., 2020. Sex-specific patterns of senescence in artificial insect populations varying in sex-ratio to manipulate reproductive effort. *BMC Evolutionary Biology* 20, 18. <https://doi.org/10.1186/s12862-020-1586-x>
- Jehan, C., Sabarly, C., Rigaud, T., Moret, Y., 2022a. Senescence of the immune defences and reproductive trade-offs in females of the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Scientific Reports* 12, 19747. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24334-y>
- Jehan, C., Sabarly, C., Rigaud, T., Moret, Y., 2022b. Age-specific fecundity under pathogenic threat in an insect: Terminal investment versus reproductive restraint. *Journal of Animal Ecology* 91, 101–111. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13604>
- Jehan, C., Sabarly, C., Rigaud, T., Moret, Y., 2021. Late-life reproduction in an insect: Terminal investment, reproductive restraint or senescence. *Journal of Animal Ecology* 90, 282–297. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13367>
- Johnson, A.A., Shokhirev, M.N., Shoshitaishvili, B., 2019. Revamping the evolutionary theories of aging. *Ageing Research Reviews* 55, 100947. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100947>
- Jones, O.R., Gaillard, J.-M., Tuljapurkar, S., Alho, J.S., Armitage, K.B., Becker, P.H., Bize, P., Brommer, J., Charmantier, A., Charpentier, M., Clutton-Brock, T., Dobson, F.S., Festa-Bianchet, M., Gustafsson, L., Jensen, H., Jones, C.G., Lillandt, B.-G., McCleery, R., Merilä, J., Neuhaus, P., Nicoll, M.A.C., Norris, K., Oli, M.K., Pemberton, J., Pietiäinen, H., Ringsby, T.H., Roulin, A., Saether, B.-E., Setchell, J.M., Sheldon, B.C., Thompson, P.M., Weimerskirch, H., Jean Wickings, E., Coulson, T., 2008. Senescence rates are determined by ranking on the fast–slow life-history continuum. *Ecology Letters* 11, 664–673. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01187.x>
- Jones, O.R., Scheuerlein, A., Salguero-Gómez, R., Camarda, C.G., Schaible, R., Casper, B.B., Dahlgren, J.P., Ehrlén, J., García, M.B., Menges, E.S., Quintana-Ascencio, P.F., Caswell, H., Baudisch, A., Vaupel, J.W., 2014. Diversity of ageing across the tree of life. *Nature* 505, 169–173. <https://doi.org/10.1038/nature12789>
- Jones, O.R., Vaupel, J.W., 2017. Senescence is not inevitable. *Biogerontology* 18, 965–971. <https://doi.org/10.1007/s10522-017-9727-3>
- Juckett, D.A., Rosenberg, B., 1993. Comparison of the Gompertz and Weibull functions as descriptors for human mortality distributions and their intersections. *Mechanisms of Ageing and Development* 69, 1–31. [https://doi.org/10.1016/0047-6374\(93\)90068-3](https://doi.org/10.1016/0047-6374(93)90068-3)
- Kassambara, A., Kosinski, M., Biecek, P., Fabian, S., 2021. survminer: Drawing Survival Curves using “ggplot2.”
- Kecko, S., Mihailova, A., Kangassalo, K., Elferts, D., Krama, T., Krams, R., Luoto, S., Rantala, M.J., Krams, I.A., 2017. Sex-specific compensatory growth in the larvae of the greater wax moth *Galleria mellonella*. *Journal of Evolutionary Biology* 30, 1910–1918. <https://doi.org/10.1111/jeb.13150>
- Khan, I., Agashe, D., Rolff, J., 2017. Early-life inflammation, immune response and ageing. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284, 20170125. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0125>
- Khan, I., Prakash, A., Agashe, D., 2019. Pathogen susceptibility and fitness costs explain variation in immune priming across natural populations of flour beetles. *Journal of Animal Ecology* 88, 1332–1342. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13030>
- Khan, I., Prakash, A., Agashe, D., 2016. Immunosenescence and the ability to survive bacterial infection in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Journal of Animal Ecology* 85, 291–301. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12433>
- Kim, D.-H., Lee, Y.T., Lee, Y.J., Chung, J.H., Lee, B.L., Choi, B.S., Lee, Y., 1998. Bacterial Expression of Tenecin 3, an Insect Antifungal Protein Isolated from *Tenebrio molitor*, and Its Efficient Purification. *Molecules & Cells* 8, 786–789.

- Kim, S.Y., Kim, H.G., Yoon, H.J., Lee, K.Y., Kim, N.J., 2017. Nutritional analysis of alternative feed ingredients and their effects on the larval growth of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Entomological Research* 47, 194–202. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12236>
- Kim, Y., Kim, I., Jeong, Y., 2019. Quality Characteristics of White Pan Bread Added with *Tenebrio molitor* Powder 48, 253–259.
- Kirkwood, T.B.L., 2005. Understanding the Odd Science of Aging. *Cell* 120, 437–447. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.01.027>
- Kirkwood, T.B.L., 1977. Evolution of ageing. *Nature* 270, 301–304. <https://doi.org/10.1038/270301a0>
- Kirkwood, T.B.L., Austad, S.N., 2000. Why do we age? *Nature* 408, 233–238. <https://doi.org/10.1038/35041682>
- Kirkwood, T.B.L., Holliday, R., 1979. The evolution of ageing and longevity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences* 205, 531–546. <https://doi.org/10.1098/rspb.1979.0083>
- Kirkwood, T.B.L., Rose, M.R., 1991. Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 332, 15–24. <https://doi.org/10.1098/rstb.1991.0028>
- Knight, J.A., 2000. Review: Free radicals, antioxidants, and the immune system. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 30, 145–158.
- Kojour, M.A.M., Baliarsingh, S., Jang, H.A., Yun, K., Park, K.B., Lee, J.E., Han, Y.S., Patnaik, B.B., Jo, Y.H., 2022. Current knowledge of immune priming in invertebrates, emphasizing studies on *Tenebrio molitor*. *Developmental & Comparative Immunology* 127, 104284. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2021.104284>
- Korner, P., Schmid-Hempel, P., 2004. In vivo dynamics of an immune response in the bumble bee *Bombus terrestris*. *Journal of Invertebrate Pathology* 87, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2004.07.004>
- Krams, I., Daukste, J., Kivleniece, I., Kaasik, A., Krama, T., Freeberg, T.M., Rantala, M.J., 2013. Trade-off between cellular immunity and life span in mealworm beetles *Tenebrio molitor*. *Current Zoology* 59, 340–346. <https://doi.org/10.1093/czoolo/59.3.340>
- Kraus, C., Pavard, S., Promislow, D.E.L., 2013. The Size–Life Span Trade-Off Decomposed: Why Large Dogs Die Young. *The American Naturalist* 181, 492–505. <https://doi.org/10.1086/669665>
- Kujoth, G.C., Bradshaw, P.C., Haroon, S., Prolla, T.A., 2007. The Role of Mitochondrial DNA Mutations in Mammalian Aging. *PLOS Genetics* 3, e24. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030024>
- Labaude, S., Moret, Y., Cézilly, F., Reuland, C., Rigaud, T., 2017. Variation in the immune state of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) according to temperature: Are extreme temperatures a stress? *Developmental & Comparative Immunology* 76, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.05.013>
- Lazzaro, B.P., Little, T.J., 2008. Immunity in a variable world. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 15–26. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0141>
- Le Bourg, É., 2001. A mini-review of the evolutionary theories of aging. Is it the time to accept them? *Demographic Research* 4, 1–28.
- Leclercq, J., 1948. Influence Des Conditions Hygrométriques Sur Les Larves, Les Nymphes Et Les Adultes De «*Tenebrio Molitor*» L. *Archives Internationales de Physiologie* 55, 366–376. <https://doi.org/10.3109/13813454809144860>
- Lee, H.S., Cho, M.Y., Lee, K.M., Kwon, T.H., Homma, K., Natori, S., Lee, B.L., 1999. The pro-phenoloxidase of coleopteran insect, *Tenebrio molitor*, larvae was activated during cell clump/cell adhesion of insect cellular defense reactions. The nucleotide sequence data reported in this paper will appear in the DDBJ, EMBL and GenBank Nucleotide Sequence Databases with accession number AB020738.1. *FEBS Letters* 444, 255–259. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)00067-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00067-8)

- Lee, W.-S., Monaghan, P., Metcalfe, N.B., 2013. Experimental demonstration of the growth rate–lifespan trade-off. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280, 20122370. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2370>
- Lee, Y.J., Chung, T.J., Park, C.W., Hahn, Y., Chung, J.H., Lee, B.L., Han, D.M., Jung, Y.H., Kim, S., Lee, Y., 1996. Structure and Expression of the Tenecin 3 Gene in *Tenebrio molitor*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 218, 6–11. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.0002>
- Lemaître, J.-F., Berger, V., Bonenfant, C., Douhard, M., Gamelon, M., Plard, F., Gaillard, J.-M., 2015. Early-late life trade-offs and the evolution of ageing in the wild. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282, 20150209. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.0209>
- Lemaître, J.-F., Gaillard, J.-M., 2017. Reproductive senescence: new perspectives in the wild. *Biological Reviews* 92, 2182–2199. <https://doi.org/10.1111/brv.12328>
- Lenth, R.V., Buerkner, P., Herve, M., Love, J., Miguez, F., Riebl, H., Singmann, H., 2022. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means.
- Letendre, C., Duffield, K.R., Sadd, B.M., Sakaluk, S.K., House, C.M., Hunt, J., 2022. Genetic covariance in immune measures and pathogen resistance in decorated crickets is sex and pathogen specific. *Journal of Animal Ecology* 91, 1471–1488. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13709>
- Li, T., Yan, D., Wang, X., Zhang, L., Chen, P., 2019. Hemocyte Changes During Immune Melanization in *Bombyx Mori* Infected with *Escherichia coli*. *Insects* 10, 301. <https://doi.org/10.3390/insects10090301>
- Libertini, G., Shubernetskaya, O., Corbi, G., Ferrara, N., 2021. Is Evidence Supporting the Subtelomere–Telomere Theory of Aging? *Biochemistry Moscow* 86, 1526–1539. <https://doi.org/10.1134/S0006297921120026>
- Lin, J., Epel, E., 2022. Stress and telomere shortening: Insights from cellular mechanisms. *Ageing Research Reviews* 73, 101507. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101507>
- Lind, M.I., Chen, H., Meurling, S., Guevara Gil, A.C., Carlsson, H., Zwoinska, M.K., Andersson, J., Larva, T., Maklakov, A.A., 2017. Slow development as an evolutionary cost of long life. *Functional Ecology* 31, 1252–1261. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12840>
- Lind, M.I., Ingvarsson, P.K., Johansson, H., Hall, D., Johansson, F., 2011. Gene flow and selection on phenotypic plasticity in an island system of *Rana temporaria*. *Evolution* 65, 684–697. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2010.01122.x>
- Lind, M.I., Johansson, F., 2011. Testing the role of phenotypic plasticity for local adaptation: growth and development in time-constrained *Rana temporaria* populations. *Journal of Evolutionary Biology* 24, 2696–2704. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02393.x>
- Lind, M.I., Ravindran, S., Sekajova, Z., Carlsson, H., Hinas, A., Maklakov, A.A., 2019. Experimentally reduced insulin/IGF-1 signaling in adulthood extends lifespan of parents and improves Darwinian fitness of their offspring. *Evolution Letters* 3, 207–216. <https://doi.org/10.1002/evl3.108>
- Lind, M.I., Zwoinska, M.K., Meurling, S., Carlsson, H., Maklakov, A.A., 2016. Sex-specific Tradeoffs With Growth and Fitness Following Life-span Extension by Rapamycin in an Outcrossing Nematode, *Caenorhabditis remanei*. *The Journals of Gerontology: Series A* 71, 882–890. <https://doi.org/10.1093/gerona/glv174>
- Lindström, J., 1999. Early development and fitness in birds and mammals. *Trends in Ecology & Evolution* 14, 343–348. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01639-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01639-0)
- Lindström, J., Metcalfe, N.B., Royle, N.J., 2005. How are animals with ornaments predicted to compensate for a bad start in life? A dynamic optimization model approach. *Functional Ecology* 19, 421–428. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2005.00974.x>
- Lints, F.A., Soliman, M.H., 1977. Growth rate and longevity in *Drosophila melanogaster* and *Tribolium castaneum*. *Nature* 266, 624–625. <https://doi.org/10.1038/266624a0>
- Little, T.J., Kraaijeveld, A.R., 2004. Ecological and evolutionary implications of immunological priming in invertebrates. *Trends in Ecology & Evolution* 19, 58–60. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2003.11.011>

- Ljubuncic, P., Reznick, A.Z., 2009. The Evolutionary Theories of Aging Revisited – A Mini-Review. *Gerontology* 55, 205–216. <https://doi.org/10.1159/000200772>
- Longo, V.D., Mitteldorf, J., Skulachev, V.P., 2005. Programmed and altruistic ageing. *Nature Reviews Genetics* 6, 866–872. <https://doi.org/10.1038/nrg1706>
- López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G., 2013. The Hallmarks of Aging. *Cell* 153, 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
- López-Otín, C., Galluzzi, L., Freije, J.M.P., Madeo, F., Kroemer, G., 2016. Metabolic Control of Longevity. *Cell* 166, 802–821. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.031>
- Lu, T., Finkel, T., 2008. Free radicals and senescence. *Experimental Cell Research, Cellular Senescence & Longevity* 314, 1918–1922. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2008.01.011>
- Luckinbill, L.S., Arking, R., Clare, M.J., Cirocco, W.C., Buck, S.A., 1984. Selection for Delayed Senescence in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 38, 996–1003. <https://doi.org/10.2307/2408433>
- Maklakov, A.A., Chapman, T., 2019. Evolution of ageing as a tangle of trade-offs: energy versus function. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 286, 20191604. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1604>
- Maklakov, A.A., Immler, S., 2016. The Expensive Germline and the Evolution of Ageing. *Current Biology* 26, R577–R586. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.04.012>
- Maklakov, A.A., Rowe, L., Friberg, U., 2015. Why organisms age: Evolution of senescence under positive pleiotropy? *BioEssays* 37, 802–807. <https://doi.org/10.1002/bies.201500025>
- Mangel, M., B. Munch, S., 2005. A Life-History Perspective on Short- and Long-Term Consequences of Compensatory Growth. *The American Naturalist*. <https://doi.org/10.1086/444439>
- McCay, C.M., 1933. Is Longevity Compatible with Optimum Growth? *Science* 77, 410–411.
- Medawar, P.B., 1952. *An Unsolved Problem of Biology*. H. K. Lewis, London.
- Medvedev, Z.A., 1990. An Attempt at a Rational Classification of Theories of Ageing. *Biological Reviews* 65, 375–398. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1990.tb01428.x>
- Mendiburu, F. de, 2021. *agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*.
- Metcalf, C.J.E., Roth, O., Graham, A.L., 2019. Why leveraging sex differences in immune trade-offs may illuminate the evolution of senescence. *Functional Ecology* 34, 129–140. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13458>
- Metcalf, N.B., Monaghan, P., 2003. Growth versus lifespan: perspectives from evolutionary ecology. *Experimental Gerontology* 38, 935–940. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(03\)00159-1](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(03)00159-1)
- Metcalf, N.B., Monaghan, P., 2001. Compensation for a bad start: grow now, pay later? *Trends in Ecology & Evolution* 16, 254–260. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02124-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02124-3)
- Millard, S.P., Kowarik, A., 2023. *EnvStats: Package for Environmental Statistics, Including US EPA Guidance*.
- Modlin, R.L., Doherty, P., 2003. Host-pathogen interactions - Host defense against microbial pathogens - the immune system's weapons of mass destruction. *Current Opinion in Immunology* 4, 393–395. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(03\)00082-7](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(03)00082-7)
- Monaghan, P., 2008. Early growth conditions, phenotypic development and environmental change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363, 1635–1645. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.0011>
- Monaghan, P., Charmantier, A., Nussey, D.H., Ricklefs, R.E., 2008. The Evolutionary Ecology of Senescence. *Functional Ecology* 22, 371–378.
- Monaghan, P., Haussmann, M.F., 2006. Do telomere dynamics link lifestyle and lifespan? *Trends in Ecology & Evolution* 21, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.11.007>

- Moon, H.J., Lee, S.Y., Kurata, S., Natori, S., Lee, B.L., 1994. Purification and Molecular Cloning of cDNA for an Inducible Antibacterial Protein from Larvae of the Coleopteran, *Tenebrio molitor*1. *The Journal of Biochemistry* 116, 53–58. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a124502>
- Moorad, J., Promislow, D., Silvertown, J., 2019. Evolutionary Ecology of Senescence and a Reassessment of Williams' 'Extrinsic Mortality' Hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution* 34, 519–530. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.02.006>
- Moret, Y., 2006. 'Trans-generational immune priming': specific enhancement of the antimicrobial immune response in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273, 1399–1405. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3465>
- Moret, Y., Coustau, C., Braquart-Varnier, C., Gourbal, B., 2019. Immune Priming and Trans-Generational Protection From Parasites, in: Choe, J.C. (Ed.), *Encyclopedia of Animal Behavior (Second Edition)*. Academic Press, Oxford, pp. 764–774. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.90726-X>
- Moret, Y., Moreau, J., 2012. The immune role of the arthropod exoskeleton. *Invertebrate Survival Journal* 9, 200–206.
- Moret, Y., Schmid-Hempel, P., 2009. Immune responses of bumblebee workers as a function of individual and colony age: senescence versus plastic adjustment of the immune function. *Oikos* 118, 371–378. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.17187.x>
- Moret, Y., Schmid-Hempel, P., 2000. Survival for Immunity: The Price of Immune System Activation for Bumblebee Workers. *Science* 290, 1166–1168. <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1166>
- Moret, Y., Siva-Jothy, M.T., 2003. Adaptive innate immunity? Responsive-mode prophylaxis in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270, 2475–2480. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2511>
- Mueller, L.D., Rauser, C.L., Rose, M.R., 2011. *Does Aging Stop?* Oxford University Press.
- Muggeo, V.M.R., 2008. segmented: An R Package to Fit Regression Models with Broken-Line Relationships 8.
- Muller, H.J., 1963. , in: *Cellular Basis and Aetiology of Late Somatic Effects of Ionizing Radiation*. Academic Press, London & New York., New York.
- Müller, L., Fülöp, T., Pawelec, G., 2013. Immunosenescence in vertebrates and invertebrates. *Immun Ageing* 10, 12. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-10-12>
- Munné-Bosch, S., 2015. Senescence: Is It Universal or Not? *Trends in Plant Science* 20, 713–720. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.07.009>
- Murdock, C.C., Paaijmans, K.P., Bell, A.S., King, J.G., Hillyer, J.F., Read, A.F., Thomas, M.B., 2012. Complex effects of temperature on mosquito immune function. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 3357–3366. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.0638>
- Muturi, E.J., Nyakeriga, A., Blackshear, M., 2012. Temperature-mediated differential expression of immune and stress-related genes in *Aedes aegypti* larvae. *J Am Mosq Control Assoc* 28, 79–83. <https://doi.org/10.2987/11-6194R.1>
- Nappi, A.J., Ottaviani, E., 2000. Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates. *BioEssays* 22, 469–480. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(200005\)22:5<469::AID-BIES9>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(200005)22:5<469::AID-BIES9>3.0.CO;2-4)
- Nappi, A.J., Vass, E., Frey, F., Carton, Y., 1995. Superoxide anion generation in *Drosophila* during melanotic encapsulation of parasites. *Eur J Cell Biol* 68, 450–456.
- Nettle, D., Frankenhuys, W.E., Rickard, I.J., 2013. The evolution of predictive adaptive responses in human life history. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280, 20131343. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1343>

- Nussey, D., Coulson, T., Delorme, D., Clutton-Brock, T., Pemberton, J., Festa-Bianchet, M., Gaillard, J.-M., 2011. Patterns of body mass senescence and selective disappearance differ among three species of free-living ungulates. *Ecology* 92, 1936–47. <https://doi.org/10.2307/23034827>
- Nussey, D.H., Coulson, T., Festa-Bianchet, M., Gaillard, J.-M., 2008. Measuring Senescence in Wild Animal Populations: Towards a Longitudinal Approach. *Functional Ecology* 22, 393–406.
- Nussey, D.H., Froy, H., Lemaitre, J.-F., Gaillard, J.-M., Austad, S.N., 2013. Senescence in natural populations of animals: Widespread evidence and its implications for bio-gerontology. *Ageing Research Reviews, Special Issue: Invertebrate Models of Aging* 12, 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.07.004>
- Oliveira, B.F., Nogueira-Machado, J.A., Chaves, M.M., 2010. The Role of Oxidative Stress in the Aging Process. *The Scientific World Journal* 10, 1121–1128. <https://doi.org/10.1100/tsw.2010.94>
- Olsson, M., Shine, R., 2002. Growth to death in lizards. *Evolution* 56, 1867–1870. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00202.x>
- Pan, H., Finkel, T., 2017. Key proteins and pathways that regulate lifespan. *The Journal of Biological Chemistry* 292, 6452–6460. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.771915>
- Park, Y., Kim, Y., Stanley, D., 2011. Cellular immunosenescence in adult male crickets, *Gryllus assimilis*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 76, 185–194. <https://doi.org/10.1002/arch.20394>
- Parker, G.A., Maynard-Smith, J., 1990. Optimality theory in evolutionary biology. *Nature* 348, 27–33. <https://doi.org/10.1038/348027a0>
- Partridge, L., Barton, N.H., 1993. Optimally, mutation and the evolution of ageing. *Nature* 362, 305–311. <https://doi.org/10.1038/362305a0>
- Partridge, L., Fowler, K., 1992. Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 46, 76–91. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1992.tb01986.x>
- Partridge, L., Gems, D., 2002. Mechanisms of aging: public or private? *Nature Reviews Genetics* 3, 165–175. <https://doi.org/10.1038/nrg753>
- Partridge, L., Gems, D., Withers, D.J., 2005. Sex and Death: What Is the Connection? *Cell* 120, 461–472. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.01.026>
- Partridge, L., Prowse, N., Pignatelli, P., 1999. Another set of responses and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 266, 255–261. <https://doi.org/10.1098/rspb.1999.0630>
- Pawelec, G., 2018. Age and immunity: What is “immunosenescence”? *Experimental Gerontology* 105, 4–9. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.10.024>
- Peters, A., Delhey, K., Nakagawa, S., Aulsebrook, A., Verhulst, S., 2019. Immunosenescence in wild animals: meta-analysis and outlook. *Ecology Letters* 22, 1709–1722. <https://doi.org/10.1111/ele.13343>
- Peto, R., Doll, R., 1997. There is no such thing as aging: Old age is associated with disease, but does not cause it. *BMJ* 315, 1030–1032. <https://doi.org/10.1136/bmj.315.7115.1030>
- Pigeault, R., Nicot, A., Gandon, S., Rivero, A., 2015. Mosquito age and avian malaria infection. *Malar J* 14, 383. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0912-z>
- Pinheiro, J., Bates, D., Debroy, S., Sarkar, D., R Core Team, 2022. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.
- Prokkola, J., Roff, D., Kärkkäinen, T., Krams, I., Rantala, M.J., 2013. Genetic and phenotypic relationships between immune defense, melanism and life-history traits at different temperatures and sexes in *Tenebrio molitor*. *Heredity* 111, 89–96. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.20>
- Punzo, F., 1975. Effects of temperature, moisture and thermal acclimation on the biology of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Iowa State University.

- Punzo, F., Mutchmor, J.A., 1980. Effects of Temperature, Relative Humidity and Period of Exposure on the Survival Capacity of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 53, 260–270.
- Pursall, E.R., Rolff, J., 2011. Immune Responses Accelerate Ageing: Proof-of-Principle in an Insect Model. *PLOS ONE* 6, e19972. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019972>
- R Core Team, 2022. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Ramos-Elorduy, J., González, E.A., Hernández, A.R., Pino, J.M., 2002. Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to Recycle Organic Wastes and as Feed for Broiler Chickens. *Journal of Economic Entomology* 95, 214–220. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-95.1.214>
- Rantala, M.J., Roff, D.A., 2006. Analysis of the importance of genotypic variation, metabolic rate, morphology, sex and development time on immune function in the cricket, *Gryllus firmus*. *Journal of Evolutionary Biology* 19, 834–843. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2005.01048.x>
- Rantala, M.J., Roff, D.A., 2005. An Analysis of Trade-offs in Immune Function, Body Size and Development Time in the Mediterranean Field Cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Functional Ecology* 19, 323–330.
- Rantala, M.J., Vainikka, A., Kortet, R., 2003. The role of juvenile hormone in immune function and pheromone production trade-offs: a test of the immunocompetence handicap principle. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270, 2257–2261. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2472>
- Razgonova, M.P., Zakharenko, A.M., Golokhvast, K.S., Thanasoula, M., Sarandi, E., Nikolouzakis, K., Fragkiadaki, P., Tsoukalas, D., Spandidos, D.A., Tsatsakis, A., 2020. Telomerase and telomeres in aging theory and chronographic aging theory (Review). *Molecular Medicine Reports* 22, 1679–1694. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11274>
- Règlement d'exécution (UE) 2022/169 de la commission, 2022.
- Reichert, S., Stier, A., 2017. Does oxidative stress shorten telomeres in vivo? A review. *Biology Letters* 13, 20170463. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2017.0463>
- Reinhardt, K., Naylor, R.A., Siva-Jothy, M.T., 2009. Ejaculate components delay reproductive senescence while elevating female reproductive rate in an insect. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 21743–21747. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905347106>
- Reznick, D.A., Bryga, H., Endler, J.A., 1990. Experimentally induced life-history evolution in a natural population. *Nature* 346, 357–359. <https://doi.org/10.1038/346357a0>
- Reznick, D.N., Bryant, M.J., Roff, D., Ghalambor, C.K., Ghalambor, D.E., 2004. Effect of extrinsic mortality on the evolution of senescence in guppies. *Nature* 431, 1095–1099. <https://doi.org/10.1038/nature02936>
- Ribeiro, N., Abelho, M., Costa, R., 2018. A Review of the Scientific Literature for Optimal Conditions for Mass Rearing *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Entomological Science* 53, 434–454. <https://doi.org/10.18474/JES17-67.1>
- Richter, C., Park, J.W., Ames, B.N., 1988. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 85, 6465–6467. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.17.6465>
- Ricklefs, R.E., 2006. Embryo development and ageing in birds and mammals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273, 2077–2082. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3544>
- Ricklefs, R.E., 1998. Evolutionary Theories of Aging: Confirmation of a Fundamental Prediction, with Implications for the Genetic Basis and Evolution of Life Span. *The American Naturalist* 152, 24–44. <https://doi.org/10.1086/286147>
- Ricklefs, R.E., Scheuerlein, A., 2002. Biological Implications of the Weibull and Gompertz Models of Aging. *The Journals of Gerontology: Series A* 57, B69–B76. <https://doi.org/10.1093/gerona/57.2.B69>

- Ricklefs, R.E., Scheuerlein, A., 2001. Comparison of aging-related mortality among birds and mammals. *Experimental Gerontology, Slowly Aging Organisms* 36, 845–857. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(00\)00245-X](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(00)00245-X)
- Rodríguez-Muñoz, R., Boonekamp, J.J., Liu, X.P., Skicko, I., Fisher, D.N., Hopwood, P., Tregenza, T., 2019. Testing the effect of early-life reproductive effort on age-related decline in a wild insect. *Evolution* 73, 317–328. <https://doi.org/10.1111/evo.13679>
- Roff, D., 1993. *Evolution Of Life Histories: Theory and Analysis*. Springer Science & Business Media.
- Roff, D.A., Preziosi, R., 1994. The estimation of the genetic correlation: the use of the jackknife. *Heredity* 73, 544–548. <https://doi.org/10.1038/hdy.1994.153>
- Rolff, J., 2001. Effects of age and gender on immune function of dragonflies (Odonata, Lestidae) from a wild population. *Canadian Journal of Zoology* 79, 2176–2180. <https://doi.org/10.1139/z01-190>
- Rollo, C.D., 2002. Growth negatively impacts the life span of mammals. *Evolution & Development* 4, 55–61. <https://doi.org/10.1046/j.1525-142x.2002.01053.x>
- Ronget, V., Garratt, M., Lemaître, J.-F., Gaillard, J.-M., 2017. The ‘Evo-Demo’ Implications of Condition-Dependent Mortality. *Trends in Ecology & Evolution* 32, 909–921. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2017.09.003>
- Roper, M., Capdevila, P., Salguero-Gómez, R., 2021. Senescence: why and where selection gradients might not decline with age. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 288, 20210851. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.0851>
- Rose, M., Flatt, T., Graves Jr, J., Greer, L.F., Martínez, D., Matos, M., Mueller, L., Shmookler Reis, R., Shahrestani, P., 2012. What is Aging? *Frontiers in Genetics* 3.
- Rose, M.R., 1991. *Evolutionary Biology of Aging*. Oxford University Press.
- Rose, M.R., 1984. Laboratory Evolution of Postponed Senescence in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 38, 1004–1010. <https://doi.org/10.2307/2408434>
- Rose, M.R., Burke, M.K., Shahrestani, P., Mueller, L.D., 2008. Evolution of ageing since Darwin. *Journal of Genetics* 87, 363–371. <https://doi.org/10.1007/s12041-008-0059-6>
- Rose, M.R., Charlesworth, B., 1981. Genetics of life history in *Drosophila melanogaster*. I. Sib analysis of adult females. *Genetics* 97, 173–186. <https://doi.org/10.1093/genetics/97.1.173>
- Rose, R.J., Clarke, R.T., Chapman, S.B., 1998. Individual variation and the effects of weather, age and flowering history on survival and flowering of the long-lived perennial *Gentiana pneumonanthe*. *Ecography* 21, 317–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1998.tb00569.x>
- Rosseel, Y., Jorgensen, T.D., Rockwood, N., Oberski, D., Byrnes, J., Vanbrabant, L., Savalei, V., Merkle, E., Hallquist, M., Rhemtulla, M., Katsikatsou, M., Barendse, M., Scharf, F., Du, H., 2022. lavaan: Latent Variable Analysis.
- Roth, O., Sadd, B.M., Schmid-Hempel, P., Kurtz, J., 2009. Strain-specific priming of resistance in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276, 145–151. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1157>
- Rumbos, C. i., Adamaki-Sotiraki, C., Gourgouta, M., Karapanagiotidis, I. t., Asimaki, A., Mente, E., Athanassiou, C. g., 2021. Strain matters: strain effect on the larval growth and performance of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor* L. *Journal of Insects as Food and Feed* 7, 1195–1205. <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0035>
- Rumbos, C.I., Karapanagiotidis, I.T., Mente, E., Psafakis, P., Athanassiou, C.G., 2020. Evaluation of various commodities for the development of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor*. *Sci Rep* 10, 11224. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67363-1>
- Russell, S.J., Kahn, C.R., 2007. Endocrine regulation of ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 8, 681–691. <https://doi.org/10.1038/nrm2234>

- Sadd, B.M., Siva-Jothy, M.T., 2006. Self-harm caused by an insect's innate immunity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273, 2571–2574. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3574>
- Schulz, N.K.E., Stewart, C.M., Tate, A.T., 2022. Female investment in terminal reproduction or somatic maintenance depends on infection dose. <https://doi.org/10.1101/2022.07.25.501224>
- Schwenke, R.A., Lazzaro, B.P., Wolfner, M.F., 2016. Reproduction-Immunity Trade-Offs in Insects. *Annual Review of Entomology* 61, 239–256. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023924>
- Sgrò, C.M., Partridge, L., 1999. A Delayed Wave of Death from Reproduction in *Drosophila*. *Science* 286, 2521–2524. <https://doi.org/10.1126/science.286.5449.2521>
- Shahrestani, P., Mueller, L.D., Rose, M.R., 2009. Does Aging Stop? *Current Aging Science* 2, 3–11.
- Sheehan, G., Farrell, G., Kavanagh, K., 2020. Immune priming: the secret weapon of the insect world. *Virulence* 11, 238–246. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1731137>
- Shefferson, R.P., Jones, O.R., Salguero-Gómez, R., 2017. *The Evolution of Senescence in the Tree of Life*. Cambridge University Press.
- Siemianowska, E., Kosewska, A., Aljewicz, M., Skibniewska, K.A., Polak-Juszczak, L., Jarocki, A., Jedras, M., 2013. Larvae of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as European novel food 2013. <https://doi.org/10.4236/as.2013.46041>
- Siva-Jothy, M.T., Moret, Y., Rolff, J., 2005. Insect Immunity: An Evolutionary Ecology Perspective, in: Simpson, S.J. (Ed.), *Advances in Insect Physiology*. Academic Press, pp. 1–48. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(05\)32001-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(05)32001-7)
- Söderhäll, K., Cerenius, L., 1998. Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Current Opinion in Immunology* 10, 23–28. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(98\)80026-5](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(98)80026-5)
- Sparkman, A.M., Arnold, S.J., Bronikowski, A.M., 2007. An empirical test of evolutionary theories for reproductive senescence and reproductive effort in the garter snake *Thamnophis elegans*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274, 943–950. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.0072>
- Spurlock, M., 1997. Regulation of metabolism and growth during immune challenge: an overview of cytokine function. *Journal of animal science* 75 7, 1773–83. <https://doi.org/10.2527/1997.7571773X>
- Stanley, D., 2012. Aging and immunosenescence in invertebrates. *Invertebrate Survival Journal* 9, 102–109.
- Stearns, S.C., 2000. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. *Naturwissenschaften* 87, 476–486. <https://doi.org/10.1007/s001140050763>
- Stearns, S.C., 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Stearns, S.C., 1983. The Influence of Size and Phylogeny on Patterns of Covariation among Life-History Traits in the Mammals. *Oikos* 41, 173–187. <https://doi.org/10.2307/3544261>
- Stearns, S.C., Ackermann, M., Doebeli, M., Kaiser, M., 2000. Experimental evolution of aging, growth, and reproduction in fruitflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 3309–3313. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.7.3309>
- Steinsaltz, D., Evans, S.N., Wachter, K.W., 2005. A generalized model of mutation–selection balance with applications to aging. *Advances in Applied Mathematics* 35, 16–33. <https://doi.org/10.1016/j.aam.2004.09.003>
- Stuart, J.A., Page, M.M., 2010. Plasma IGF-1 is negatively correlated with body mass in a comparison of 36 mammalian species. *Mechanisms of Ageing and Development* 131, 591–598. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2010.08.005>
- Swanson, E.M., Dantzer, B., 2014. Insulin-like growth factor-1 is associated with life-history variation across Mammalia. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20132458. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2458>
- Tai, T.H., Noymer, A., 2018. Models for estimating empirical Gompertz mortality: With an application to evolution of the Gompertzian slope. *Population Ecology* 60, 171–184. <https://doi.org/10.1007/s10144-018-0609-6>

- Tarwater, C.E., Arcese, P., 2017. Age and years to death disparately influence reproductive allocation in a short-lived bird. *Ecology* 98, 2248–2254. <https://doi.org/10.1002/ecy.1851>
- Teuschl, Y., Reim, C., Blanckenhorn, W.U., 2007. Correlated responses to artificial body size selection in growth, development, phenotypic plasticity and juvenile viability in yellow dung flies. *Journal of Evolutionary Biology* 20, 87–103. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2006.01225.x>
- Therneau, T.M., 2022. *coxme: Mixed Effects Cox Models*.
- Therneau, T.M., 2022. *survival: Survival Analysis*.
- Tidière, M., Gaillard, J.-M., Müller, D.W.H., Lackey, L.B., Gimenez, O., Clauss, M., Lemaître, J.-F., 2015. Does sexual selection shape sex differences in longevity and senescence patterns across vertebrates? A review and new insights from captive ruminants. *Evolution* 69, 3123–3140. <https://doi.org/10.1111/evo.12801>
- Tompkins, E.M., Anderson, D.J., 2019. Sex-specific patterns of senescence in Nazca boobies linked to mating system. *Journal of Animal Ecology* 88, 986–1000. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12944>
- Urabe, K., Aroca, P., Tsukamoto, K., Mascagna, D., Palumbo, A., Prota, G., Hearing, V.J., 1994. The inherent cytotoxicity of melanin precursors: A revision. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1221, 272–278. [https://doi.org/10.1016/0167-4889\(94\)90250-X](https://doi.org/10.1016/0167-4889(94)90250-X)
- Urbański, A., Adamski, Z., Rosiński, G., 2018. Developmental changes in haemocyte morphology in response to *Staphylococcus aureus* and latex beads in the beetle *Tenebrio molitor* L. *Micron* 104, 8–20. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2017.10.005>
- Urs, K.C.D., Hopkins, T.L., 1973. Effect of moisture on growth rate and development of two strains of *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research* 8, 291–297. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(73\)90045-3](https://doi.org/10.1016/0022-474X(73)90045-3)
- van der Have, T.M., de Jong, G., 1996. Adult Size in Ectotherms: Temperature Effects on Growth and Differentiation. *Journal of Theoretical Biology* 183, 329–340. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1996.0224>
- van der Most, P.J., de Jong, B., Parmentier, H.K., Verhulst, S., 2011. Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments. *Functional Ecology* 25, 74–80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01800.x>
- Van Dijk, H., 2009. Ageing effects in an iteroparous plant species with a variable life span. *Annals of Botany* 104, 115–124. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp100>
- van Huis, A., 2021. Prospects of insects as food and feed. *Org. Agr.* 11, 301–308. <https://doi.org/10.1007/s13165-020-00290-7>
- Vaupel, J.W., Baudisch, A., Dölling, M., A. Roach, D., Gampe, J., 2004. The case for negative senescence. *Theoretical Population Biology, Demography in the 21st Century* 65, 339–351. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2003.12.003>
- Vaupel, J.W., Manton, K.G., Stallard, E., 1979. The impact of heterogeneity in individual frailty on the dynamics of mortality. *Demography* 16, 439–454. <https://doi.org/10.2307/2061224>
- Vigneron, A., Jehan, C., Rigaud, T., Moret, Y., 2019. Immune Defenses of a Beneficial Pest: The Mealworm Beetle, *Tenebrio molitor*. *Frontiers in Physiology* 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00138>
- Vijg, J., 2000. Somatic mutations and aging: a re-evaluation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, New Frontiers* 2000 447, 117–135. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(99\)00202-X](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(99)00202-X)
- Vijg, J., Campisi, J., 2008. Puzzles, promises and a cure for ageing. *Nature* 454, 1065–1071. <https://doi.org/10.1038/nature07216>
- Vommaro, M.L., Kurtz, J., Giglio, A., 2021. Morphological Characterisation of Haemocytes in the Mealworm Beetle *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae). *Insects* 12, 423. <https://doi.org/10.3390/insects12050423>

- Weaver, D.K., McFarlane, J.E., 1990. The effect of larval density on growth and development of *Tenebrio molitor*. *Journal of Insect Physiology* 36, 531–536. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(90\)90105-0](https://doi.org/10.1016/0022-1910(90)90105-0)
- Weinert, B.T., Timiras, P.S., 2003. Invited Review: Theories of aging. *Journal of Applied Physiology* 95, 1706–1716. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00288.2003>
- Weismann, A., 1893. *The Germ-plasm: A Theory of Heredity*. Scribner's.
- Weismann, A., 1892. *Essays upon heredity and kindred biological problems*, 1st ed. Clarendon Press, Oxford.
- Weismann, A., 1891. *Essays upon heredity and kindred biological problems*, 1st ed. Clarendon Press, Oxford.
- Wensink, M.J., Caswell, H., Baudisch, A., 2017. The Rarity of Survival to Old Age Does Not Drive the Evolution of Senescence. *Evolutionary Biology* 44, 5–10. <https://doi.org/10.1007/s11692-016-9385-4>
- Williams, G.C., 1957. Pleiotropy, Natural Selection, and the Evolution of Senescence. *Evolution* 11, 398–411. <https://doi.org/10.1126/sageke.2001.1.cp13>
- Williams, P.D., Day, T., Fletcher, Q., Rowe, L., 2006. The shaping of senescence in the wild. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 458–463. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.05.008>
- Wilson, D.L., 1994. The analysis of survival (mortality) data: Fitting Gompertz, Weibull, and logistic functions. *Mechanisms of Ageing and Development* 74, 15–33. [https://doi.org/10.1016/0047-6374\(94\)90095-7](https://doi.org/10.1016/0047-6374(94)90095-7)
- Yearsley, J.M., Kyriazakis, I., Gordon, I.J., 2004. Delayed Costs of Growth and Compensatory Growth Rates. *Functional Ecology* 18, 563–570.
- Yuan, R., Hascup, E., Hascup, K., Bartke, A., 2023. Relationships among Development, Growth, Body Size, Reproduction, Aging, and Longevity – Trade-Offs and Pace-Of-Life. *Biochemistry Moscow* 88, 1692–1703. <https://doi.org/10.1134/S0006297923110020>
- Zajitschek, F., Hunt, J., Jennions, M.D., Hall, M.D., Brooks, R.C., 2009. Effects of Juvenile and Adult Diet on Ageing and Reproductive Effort of Male and Female Black Field Crickets, *Teleogryllus commodus*. *Functional Ecology* 23, 602–611.
- Zanchi, C., Moret, Y., Gillingham, M.A.F., 2019. Relationship between early body condition, energetic reserves and fitness in an iteroparous insect. <https://doi.org/10.1101/774893>
- Zanchi, C., Troussard, J.-P., Martinaud, G., Moreau, J., Moret, Y., 2011. Differential expression and costs between maternally and paternally derived immune priming for offspring in an insect. *Journal of Animal Ecology* 80, 1174–1183. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01872.x>
- Zerofsky, M., Harel, E., Silverman, N., Tatar, M., 2005. Aging of the innate immune response in *Drosophila melanogaster*. *Aging Cell* 4, 103–108. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2005.00147.x>
- Zhao, P., Lu, Z., Strand, M.R., Jiang, H., 2011. Antiviral, anti-parasitic, and cytotoxic effects of 5,6-dihydroxyindole (DHI), a reactive compound generated by phenoloxidase during insect immune response. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 41, 645–652. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2011.04.006>
- Ziada, A.S., Smith, M.-S.R., Côté, H.C.F., 2020. Updating the Free Radical Theory of Aging. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 8, 575645.
- Ziegelbecker, A., Sefc, K.M., 2021. Growth, body condition and contest performance after early-life food restriction in a long-lived tropical fish. *Ecology and Evolution* 11, 10904–10916. <https://doi.org/10.1002/ece3.7867>
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A., Smith, G.M., 2009. Mixed Effects Modelling for Nested Data, in: Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N., Saveliev, A.A., Smith, G.M. (Eds.), *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R, Statistics for Biology and Health*. Springer, New York, NY, pp. 101–142. https://doi.org/10.1007/978-0-387-87458-6_5

Zwaan, B., Bijlsma, R., Hoekstra, R.F., 1995. Artificial Selection for Developmental Time in *Drosophila melanogaster* in Relation to the Evolution of Aging: Direct and Correlated Responses. *Evolution* 49, 635–648. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1995.tb02300.x>

Zwaan, B.J., 2003. Linking Development and Aging. *Science of Aging Knowledge Environment* 2003, pe32–pe32. <https://doi.org/10.1126/sageke.2003.47.pe32>

Zwaan, B.J., Bijlsma, R., Hoekstra, R.F., 1992. On the developmental theory of ageing. II. The effect of developmental temperature on longevity in relation to adult body size in *D. melanogaster*. *Heredity* 68, 123–130. <https://doi.org/10.1038/hdy.1992.19>

Zwaan, B.J., Bijlsma, R., Hoekstra, R.F., 1991. On the developmental theory of ageing. I. Starvation resistance and longevity in *Drosophila melanogaster* in relation to pre-adult breeding conditions. *Heredity* 66, 29–39. <https://doi.org/10.1038/hdy.1991.4>

Table des figures et des tableaux

Figure I.1 : Principe de la pléiotropie antagoniste (d'après Gems, 2022).....	18
Figure I.2 : Principe de la théorie du soma jetable (à partir de Gems, 2022)..	20
Figure I.3 : Principe de la théorie développementale du vieillissement.	22
Figure I.4 : Théorie de l'hyperfonction d'après Blagosklonny (2021, 2012)..	23
Figure I.5 : Schéma des hypothèses simplifiées de la thèse sur la sénescence reproductive et actuarielle de <i>T. molitor</i> en fonction de son temps de développement (durée de sa phase larvaire) et/ou de son taux de croissance (vitesse de la prise de masse pendant la phase larvaire, représenté par la densité d'éclair).....	49
Figure P1.1: Variation of life-history traits according to conditions of larval growth (relative humidity): growth duration (A), pupal mass (B), growth rate (C), elytra length (D), adult survival (E), and total fecundity (sum of the number of eggs laid during the early and the late reproductive episode) (F)...	78
Figure P1.2: Number of eggs laid by <i>Tenebrio molitor</i> as a function of the female's growth rate according to the reproductive episode (early reproductive episode, R1: females 10–20 days old post-eclosion; late reproductive episode, R2: females 40–50 days old post-eclosion) (A) and as a function of life expectancy at reproductive episode (B).....	80
Figure P1.3: Reproductive investment (number of eggs per mg of body mass) of females <i>Tenebrio molitor</i> , according to reproductive episode (early reproductive episode, R1: females 10–20 days old post-eclosion; late reproductive episode, R2: females 40–50 days old post-eclosion) (A); as a function of the female's growth rate (B) and as a function of life expectancy at reproductive episode (C).	82
Figure P1.4: Path analysis diagram describing the direct and indirect effects of growth rate on fecundity and adult longevity.....	83
Figure P1.5: Reproductive senescence of females of <i>Tenebrio molitor</i> as a function of larval growth rate and according to the conditions of larval growth (relative humidity).	84
Figure P1.6 : Sénescence reproductive des femelles de <i>T. molitor</i> issues des différentes humidités relatives larvaires en fonction du temps de développement larvaire. La sénescence est illustrée par (A) l'Indice de sénescence reproductive (calculé comme le rapport entre la différence entre les reproductions tardive et précoce, et la fécondité totale) et (B) le nombre d'œufs pondus lors des périodes de reproduction précoce et tardive.	93
Figure P1.7 : Caractéristiques des femelles ayant grandi dans différentes conditions de température. (A) Temps de développement larvaire, (B) Masse nymphale, (C) Taux de croissance larvaire, (D) Longueur des élytres, (E) Fécondité totale et (F) Probabilité de survie en fonction de l'âge.	102
Figure P1.8 : Sénescence reproductive des femelles de <i>T. molitor</i> issues de différents régimes de température larvaire en fonction du temps de développement larvaire.....	105
Figure P1.9 : Sénescence reproductive des femelles de <i>T. molitor</i> issues des différents régimes de température larvaire en fonction de la longévité au stade adulte..	106

Figure P1.10 : Sénescence reproductive des femelles de <i>T. molitor</i> issues de différents régimes de température larvaire en fonction du taux de croissance larvaire.....	108
Figure 1.11 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalité âge-spécifiques des <i>T. molitor</i> ayant grandi à différentes températures larvaires.....	132
Figure P1.12 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalité âge-spécifiques des <i>T. molitor</i> ayant grandi à différentes humidités relatives larvaires.	133
Figure P1.13. Life history traits after exposure to different larval conditions. (A), (B) Growth duration (estimated marginal means) as a function of larval temperature (RH constant at 85%) (A) and larval relative humidity (temperature constant at 24°C) conditions (B), corrected for the effect of sex. (C), (D) Pupal mass (estimated marginal means) as a function of larval temperature (C) and larval relative humidity (D). (E), (F) adult age specific survival as a function of larval temperature (E) and larval relative humidity conditions (F).	152
Figure P1.14: Cellular defense scores (PC1 of thePCA) in insects reared under different larval temperatures. Immune scores are plotted against growth duration, before and after an immune challenge in (A) young adult insects (15 ± 2 days post eclosion) and (B) old adult insects (45 ± 2 days post eclosion).	153
Figure P1.15: Enzymatic defense scores (PC2 of the PCA) in insects reared under different larval temperatures. Immune scores are plotted against (A) Growth duration and (B) Adult longevity, before and after an immune challenge.	154
Figure P1.16: Antibacterial defense scores (PC3 of the PCA) in insects reared under different larval temperatures. Immune scores are plotted against (A), (B) growth duration and (C), (D) adult longevity, before and after an immune challenge occurring when the insects were young ((A), (C)) and when the insects were old ((B), (D)).	156
Figure P1.17: Enzymatic defense scores (PC2 of the PCA) in insects reared under different larval relative humidities.....	158
Figure P1.18: Antibacterial defense scores (PC3 of the PCA) in insects reared under different larval relative humidities. Immune scores are plotted against (A), (B) growth duration and (C), (D) adult longevity, before and after an immune challenge occurring when the insects were young ((A), (C)) and when the insects were old ((B), (D)).	159
Figure P2.1 : Temps de développement larvaire en fonction des lignées consanguines.	187
Figure P2.2 : Masse nymphale en fonction des lignées consanguines.	188
Figure P2.3 : Taux de croissance larvaire en fonction des lignées consanguines.	189
Figure P2.4 : Longueur des élytres en fonction des lignées consanguines.	189
Figure P2.5 : Fécondité totale, correspondant à la somme des nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction (précoce et tardive), des femelles en fonction des lignées consanguines.	190
Figure P2.6 : Longévité adulte en fonction des lignées consanguines.....	191

Figure P2.7 : Masses nymphales moyennes (mg) des lignées en fonction de leur temps de développement moyen (jours).....	192
Figure P2.8 : Projection des individus et des variables sur les deux premiers axes issus de l'analyse en composante principale sur les femelles des 17 lignées consanguines de <i>T. molitor</i> avec comme variables : le temps de développement larvaire, la masse nymphale, le taux de croissance larvaire, la longueur des élytres, la fécondité totale (somme des œufs pondus lors des deux périodes de reproduction) et la longévité des adultes.	193
Figure P2.9 : Sénescence reproductive des femelles <i>T. molitor</i> des différentes lignées consanguines en fonction du temps de développement larvaire.	195
Figure P2.10 : Nombre d'œufs pondus par les femelles <i>T. molitor</i> des 14 lignées consanguines, périodes de reproduction confondues, en fonction de leur masse avant la période.....	197
Figure P2.11 : Nombre d'œufs pondus par les femelles <i>T. molitor</i> des 14 lignées consanguines, périodes de reproduction confondues, en fonction de leur longévité sur leur phase adulte.	197
Figure P2.12 : Sénescence reproductive des femelles <i>T. molitor</i> des différentes lignées consanguines en fonction du taux de croissance larvaire, approchée par (A) l'indice de sénescence reproductive (calculé comme le rapport entre la différence entre les reproductions tardive et précoce, et la Fécondité totale) et (B) le nombre d'œufs pondus en période de reproduction précoce et tardive.	199
Figure P2.13 : Nombre d'œufs moyen pondus par les femelles <i>T. molitor</i> des différentes lignées consanguines lors des périodes de reproduction précoce et tardive en fonction (A) du temps de développement larvaire moyen par lignée et (B) du taux de croissance larvaire moyen par lignée.	202
Figure P2.14 : Nombre d'œufs moyen pondus par les femelles <i>T. molitor</i> des lignées consanguines lors des périodes de reproduction précoce et tardive en fonction de leur longévité adulte moyenne....	203
Figure P2.15 : Longévité lors de la phase adulte des <i>T. molitor</i> des 14 lignées consanguines en fonction (A) de leur temps de développement larvaire ; (B) de leur taux de croissance larvaire.....	205
Figure P2.16 : Longévité lors de la phase adulte des lignées <i>T. molitor</i> considérées via leurs moyennes en fonction de leur temps de développement larvaire.	206
Figure P2.17 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalité âge-spécifiques des <i>T. molitor</i> issus de 14 lignées consanguines.....	209
Figure P2.18 : Mise en relation des paramètres de sénescence actuarielle avec le temps de développement larvaire moyen par lignée ((A), (C) et (E)) et avec le taux de croissance larvaire moyen par lignée ((B), (D) et (F))......	211
Tableau P1.1 : Nombre d'individus expérimentaux obtenus à chaque stade de développement et pour chaque condition environnementale larvaire, destinés aux mesures de performances reproductives précoces ou tardives, ainsi qu'aux mesures de survie.....	63
Tableau P1.2 : Nombre d'individus expérimentaux obtenus à chaque stade de développement et pour chaque condition environnementale larvaire à partir des larves destinées aux mesures d'immunité (A) tôt et (B) plus tard dans leur vie d'adulte.	67
Table P1.3: Linear mixed model analyzing the number of eggs laid by <i>Tenebrio molitor</i> females.....	79

Table P1.4 : Linear mixed model analyzing the reproductive investment (number of eggs per mg of body mass before the reproduction episode) of <i>Tenebrio molitor</i> females.	81
Table P1.5: Linear model analyzing the reproductive senescence of <i>T. molitor</i> females.	84
Tableau P1.6 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du temps de développement larvaire sur la sénescence reproductive des femelles ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative, estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) les nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction.	92
Tableau P1.7 : Résultats de la régression de Cox pour la survie des femelles ayant grandi dans différentes conditions de température larvaires.	103
Tableau P1.8 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du temps de développement larvaire sur la sénescence reproductive pour les femelles ayant grandi dans les différentes conditions de température, estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) les nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction.	104
Tableau P1.9 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du taux de croissance larvaire sur la sénescence reproductive pour les femelles ayant grandi dans les différentes conditions de température, estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) les nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction.	109
Tableau P1.10 : Analyse de survie de <i>T. molitor</i> ayant grandi dans différentes conditions de température larvaires au moyen de régressions de Cox, en utilisant le temps de développement et le taux de croissance.	129
Tableau P1.11 : Analyse des survies des <i>T. molitor</i> ayant grandi dans les différentes conditions d'humidité relative larvaires via des régressions de Cox avec comme mesure du développement larvaire (A) le temps de développement et (B) le taux de croissance. La régression intégrait un effet aléatoire de l'humidité relative larvaire.	130
Tableau P1.12 : Paramètres des fonctions de Gompertz (a et b) adaptées sur les mortalités âge-spécifiques de adultes ayant grandi dans différentes conditions larvaires de température et d'humidité relative, taux de sénescence (ω) et seuil de début de la sénescence actuarielle (S), et leurs intervalles de confiance à 95% lorsqu'ils pouvaient être établis.	131
Table P1.13: Cox regression model analyzing adult longevity as a function of larval temperature and sex (A), and larval relative humidity and sex (B).	151
Table P1.14: Principal Component Analysis (PCA) loadings of variables and variability of principal component (PC) for larval temperature and relative humidity.	152
Table P1.15: Generalized linear mixed models describing the effects of variables on the three defense scores of adults <i>T. molitor</i> that experiences larval grown at different temperature (T20, T24 and T28).	157
Table P1.16: Generalized linear mixed models describing the effects of variables on the three defense scores of adults <i>T. molitor</i> that experiences larval grown at relative humidity (H55, H70 and H85).	160
Tableau P2.1 : Nombre d'individus expérimentaux obtenus pour chaque stade de développement pour chaque lignée de <i>T. molitor</i>	176

Tableau P2.2: Effectifs par lignée et par sexe pour les analyses servant à caractériser les lignées. ...	179
Tableau P2.3 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du temps de développement larvaire sur la sénescence reproductive, estimée par (A) l'Indice de sénescence reproductive et (B) les nombres d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction.....	194
Tableau P2.4 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse de l'effet du taux de croissance larvaire sur la sénescence reproductive estimée par (A) l'indice de sénescence reproductive et (B) le nombre d'œufs pondus lors des deux périodes de reproduction.	200
Tableau P2.5 : Modèles statistiques retenus pour l'analyse du nombre d'œufs moyen pondus par lignée lors des périodes de reproduction précoce et tardive avec dans le modèle (A) du temps de développement larvaire et (B) du taux de croissance larvaire.	201
Tableau P2.6 : Analyse de la longévité des <i>T. molitor</i> issus de 14 lignées consanguines via des modèles linéaires avec comme mesure du développement/croissance larvaire (A) le temps de développement et (B) le taux de croissance.	204
Tableau P2.7 : Analyse de la longévité des lignées de <i>T. molitor</i> via des modèles linéaires avec comme mesure du développement/croissance larvaire le temps de développement moyen par lignée.	206
Tableau P2.8 : Analyse des survies des <i>T. molitor</i> issus de 14 lignées consanguines via des régressions de Cox avec comme mesure du développement larvaire (A) le temps de développement et (B) le taux de croissance.	207
Tableau P2.9 : Héritabilités au sens large H^2 estimées pour différents traits d'histoire de vie des femelles <i>T. molitor</i> issues de 14 lignées consanguines.	212
Tableau P2.10 : Corrélations génétiques estimées.	213
Tableau D.1 : Résumé des principaux effets du temps de développement et du taux de croissance sur les mesures (en ligne) faites pour approcher la sénescence reproductive, actuarielle et immunitaire, grâce à différentes approches (en colonne), mis en évidence dans les deux parties de la thèse.	237

Annexes

Annexe 1 : Tableaux de sélection des modèles statistiques

Partie 1 – Chapitre 1

Tableau A.1 : Model selection for the number of eggs laid by females *Tenebrio molitor* during two reproductive episodes (early and late). Best models ($\Delta AIC \leq 2$ with the minimal AIC) are in bold. Models are linear mixed model with individual as random intercept factor were realized with R version 4.1.2, package nlme (Pinheiro *et al.*, 2022) (method : maximum likelihood). The most complex model included, as main effect: Reproductive episode (early or late), Larval RH (55%, 70% or 85%RH), Growth rate and Life expectancy at the considered reproductive episode; as interaction: all two-variable interactions between Reproductive episode (early or late), Larval RH (55%, 70% or 85%RH) and Growth rate. For the best model, variables and interactions with significant effect are in bold.

Model	AIC	ΔAIC
~ Reproductive episode + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode + Reproductive episode:Growth rate	1473.78	0.00
~ Reproductive episode + Larval RH + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode + Reproductive episode:Growth rate	1476.32	2.54
...
~ 1	1516.28	42.50

Tableau A.2 : Model selection for the reproductive investment of females *T. molitor* (number of eggs per milligram of body mass before the reproductive episode considered). Best models ($\Delta AIC \leq 2$ with the minimal AIC) are in bold. Models are linear mixed model with individual as random intercept factor were realized with R version 4.1.2, package nlme (Pinheiro *et al.*, 2022) (method : maximum likelihood). The most complex model included, as main effect: Reproductive episode (early or late), Larval RH (55%, 70% or 85%RH), Growth rate and Life expectancy at the considered reproductive episode; as interaction: all two-variable interactions between Reproductive episode (early or late), Larval RH (55%, 70% or 85%RH) and Growth rate. For the best models, variables and interactions with significant effect are in bold. Marginal effect ($p < 0.10$) are indicated with *.

Model	AIC	ΔAIC
~ Reproductive episode + Larval RH + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode + Reproductive episode:Growth rate*	-129.48	0.00
~ Reproductive episode + Larval RH + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode + Reproductive episode:Larval RH*	-128.98	0.51
~ Reproductive episode + Larval RH + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode + Reproductive episode:Growth rate* + Larval RH:Growth rate	-128.28	1.20
~ Reproductive episode + Larval RH + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode + Reproductive episode:Larval RH* + Larval RH:Growth rate	-127.78	1.71
~ Reproductive episode + Larval RH + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode	-127.62	1.86
~ Reproductive episode + Larval RH + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode + Reproductive episode:Larval RH* + Reproductive episode:Growth rate	-127.57	1.91
~ Reproductive episode + Growth rate + Life expectancy at reproductive episode + Reproductive episode:Growth rate	-127.07	2.42
...
~ Larval RH	-93.96	35.53

Tableau A.3 : Model selection for the reproductive senescence of females *T. molitor* (difference between the number of eggs laid during the late reproductive episode and during the early one, on the sum of number of eggs laid during both reproductive episode). Best models ($\Delta AIC \leq 2$ with the minimal AIC) are in bold. The most complex model included, as main effect: Larval RH (55%, 70% or 85%RH), Growth rate and Adult longevity; as interaction: Larval RH (55%, 70% or 85%RH) and Growth rate. For the best models, variables and interactions with significant effect are in bold. Marginal effect ($p < 0.10$) are indicated with *.

Model	AIC	ΔAIC
~ Larval RH* + Growth rate + Larval RH:Growth rate	-8.16	0.00
~ Larval RH* + Growth rate + Adult longevity + Larval RH:Growth rate	-7.03	1.13
~ Growth rate	-4.81	3.35
...
~ Adult longevity	-0.72	7.44

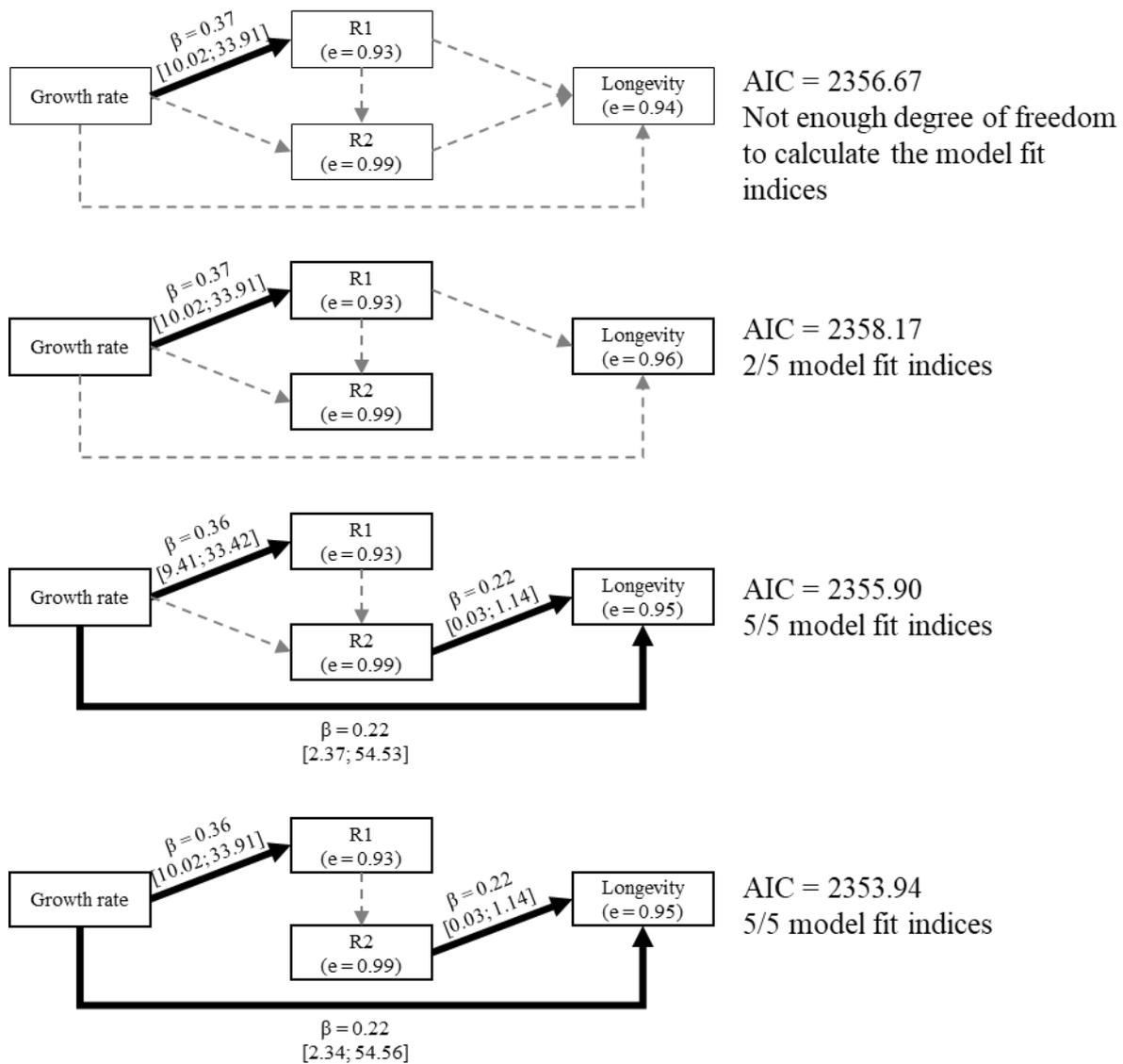


Figure A.1 : Path analysis diagrams tested to estimate the direct and indirect effects of larval growth rate on reproduction and survival of females *T. molitor*. Analysis were realized with R version 4.1.2, package lavaan (Rossee *et al.*, 2022). For all diagrams arrows with solid black lines represent significant (p -value < 0.05) links, arrows with dashed lines represent links tested but insignificant. When relationship was significant, standardized coefficient (β) and 95% confidence interval of the non-standardized coefficient are given. Errors (e) are given for each endogenous variables as $\sqrt{1 - R^2}$. Model fit indices are a chi-square test, the CFI, the TLI, the RMSEA and the SRMR.

Tableau A.4 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur la sénescence reproductive (approchée par l'indice de sénescence reproductive) des femelles de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement et son carré, la masse nymphale et la longévité adulte (en semaines) comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition d'humidité larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Masse nymphale + (1 Humidité relative larvaire)	-3,46	0,00

~ Masse nymphale + Temps de développement ² + (1 Humidité relative larvaire)	-1,97	1,49
~ Masse nymphale + Temps de développement + (1 Humidité relative larvaire)	-1,88	1,58
~ 1 + (1 Humidité relative larvaire)	-1,53	1,92
...		
~ Temps de développement ² + Temps de développement + Longévité adulte + (1 Humidité relative larvaire)	2,20	5,66

Tableau A.5 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur le nombre d'œufs pondus tôt et tard dans leur vie par les femelles de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition d'humidité larvaire et l'individu comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + (1 Humidité relative larvaire/Individu)	1510,16	0,00
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Temps de développement + Temps de développement : Période de reproduction + (1 Humidité relative larvaire/Individu)	1511,52	1,35
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Longévité adulte : Période de reproduction + (1 Humidité relative larvaire/Individu)	1511,70	1,54
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Temps de développement + (1 Humidité relative larvaire/Individu)	1512,11	1,95
...		
~ Temps de développement + (1 Humidité relative larvaire/Individu)	1552,86	42,70

Tableau A.6 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur la sénescence reproductive (approchée par l'indice de sénescence reproductive) des femelles de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement et son carré, la masse nymphale et la longévité adulte (en semaines) comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition de température larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Longévité adulte + (1 Température larvaire)	8,41	0,00
~ Longévité adulte + Masse nymphale + Temps de développement ² + (1 Température larvaire)	8,58	0,17
~ Longévité adulte + Masse nymphale + Temps de développement + (1 Température larvaire)	8,91	0,50
~ Longévité adulte + Temps de développement ² + (1 Température larvaire)	9,33	0,92
~ Longévité adulte + Temps de développement + (1 Température larvaire)	9,49	1,09
~ Longévité adulte + Masse nymphale + (1 Température larvaire)	9,95	1,55
~ 1 + (1 Température larvaire)	10,06	1,66
~ Longévité adulte + Masse nymphale + Temps de développement + Temps de développement ² + (1 Température larvaire)	10,08	1,67
...		
~ Temps de développement + Temps de développement ² + (1 Température larvaire)	13,09	4,68

Tableau A.7 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur la sénescence reproductive (approchée par l'indice de sénescence reproductive) des femelles de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance et son carré, la masse nymphale et la longévité adulte (en semaines) comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition de température larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Taux de croissance ² + Longévité adulte + (1 Température larvaire)	6,22	0,00
~ Taux de croissance + Longévité adulte + (1 Température larvaire)	6,68	0,46
~ Taux de croissance ² + Taux de croissance + Longévité adulte + (1 Température larvaire)	7,59	1,37
~ Taux de croissance ² + Longévité adulte + Masse nymphale + (1 Température larvaire)	8,03	1,81
...		
~ Taux de croissance ² + Taux de croissance + Masse nymphale + (1 Température larvaire)	12,16	5,94

Tableau A.8 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur le nombre d'œufs pondus tôt et tard dans leur vie par les femelles de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition de température larvaire et l'individu comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Temps de développement + Temps de développement : Période de reproduction + (1 Température larvaire/Individu)	1520,94	0,00
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + (1 Température larvaire/Individu)	1521,27	0,33
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Temps de développement + (1 Température larvaire/Individu)	1521,75	0,81
...		
~ 1 + (1 Température larvaire/Individu)	1575,04	54,10

Tableau A.9 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur le nombre d'œufs pondus tôt et tard dans leur vie par les femelles de *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le taux de croissance et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition de température larvaire et l'individu comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Taux de croissance + Taux de croissance : Période de reproduction + (1 Température larvaire/Individu)	1517,75	0,00
...		
~ 1 + (1 Température larvaire/Individu)	1575,04	57,29

Partie 1 – Chapitre 2

Tableau A.10 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur la longévité des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la masse nymphale et le sexe comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition de température larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ 1 + (1 Température larvaire)	1274,05	0,00
~ Masse nymphale + (1 Température larvaire)	1274,62	0,57
~ Masse nymphale + Temps de développement + (1 Température larvaire)	1274,97	0,92
~ Sexe + (1 Température larvaire)	1275,83	1,78
~ Temps de développement + (1 Température larvaire)	1276,04	1,99
...		
~ Sexe + Temps de développement + (1 Température larvaire)	1277,83	3,77

Tableau A.11 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur la longévité des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, la masse nymphale et le sexe comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition de température larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Taux de croissance + (1 Température larvaire)	1273,57	0,00
~ 1 + (1 Température larvaire)	1274,05	0,48
~ Masse nymphale + (1 Température larvaire)	1274,62	1,05
~ Taux de croissance + Sexe + (1 Température larvaire)	1275,20	1,63
~ Taux de croissance + Masse nymphale + (1 Température larvaire)	1275,50	1,93
...		
~ Taux de croissance + Masse nymphale + Sexe + (1 Température larvaire)	1277,16	3,59

Tableau A.12 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur la longévité des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la masse nymphale et le sexe comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition d'humidité relative larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Masse nymphale + (1 Humidité relative larvaire)	1238,69	0,00
~ Sexe + Masse nymphale + (1 Humidité relative larvaire)	1239,36	0,67
~ Masse nymphale + Temps de développement + (1 Humidité relative larvaire)	1240,58	1,89
...		
~ Sexe + Temps de développement + (1 Humidité relative larvaire)	1246,18	7,49

Tableau A.13 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur la longévité des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, la masse nymphale et le sexe comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition d'humidité relative larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Masse nymphale + (1 Humidité relative larvaire)	1238,69	0,00
~ Taux de croissance + (1 Humidité relative larvaire)	1239,07	0,38
~ Sexe + Masse nymphale + (1 Humidité relative larvaire)	1239,36	0,67
~ Sexe + Taux de croissance + (1 Humidité relative larvaire)	1239,81	1,12
~ Masse nymphale + Taux de croissance + (1 Humidité relative larvaire)	1240,67	1,98
...		
~ Sexe + (1 Humidité relative larvaire)	1244,22	5,53

Tableau A.14 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur la probabilité de survie des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température. L'analyse a été effectuée via des régressions de Cox. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la taille et le sexe comme variables. Une dépendance au temps a été introduite pour corriger le non-respect de l'hypothèse de proportionnalité de la régression de Cox. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition de température larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Taille + log(Temps):Taille + (1 Température larvaire)	1478,23	0,00
...		
~ Temps de développement + log(Temps):Temps de développement + Sexe + log(Temps):Sexe + (1 Température larvaire)	1493,48	15,25

Tableau A.15 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur la probabilité de survie des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température. L'analyse a été effectuée via des régressions de Cox. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, la taille et le sexe comme variables. Une dépendance au temps a été introduite pour corriger le non-respect de l'hypothèse de proportionnalité de la régression de Cox. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition de température larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Taille + log(Temps):Taille + (1 Température larvaire)	1478,23	0,00
...		
~ Taux de croissance + log(Temps):Taux de croissance + Sexe + log(Temps):Sexe + (1 Température larvaire)	1495,89	17,67

Tableau A.16 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur la probabilité de survie des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative. L'analyse a été effectuée via des régressions de Cox. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la taille et le sexe comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition d'humidité relative larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ 1 + (1 Humidité relative larvaire)	1464,68	0,00
~ Temps de développement + Sexe + (1 Humidité relative larvaire)	1465,04	0,36
~ Temps de développement + (1 Humidité relative larvaire)	1465,18	0,49
~ Sexe + (1 Humidité relative larvaire)	1465,57	0,89
~ Taille + (1 Humidité relative larvaire)	1466,65	1,97
~ Temps de développement + Taille + (1 Humidité relative larvaire)	1466,68	2,00
...		
~ Taille + Sexe + (1 Humidité relative larvaire)	1467,56	2,88

Tableau A.17 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur la probabilité de survie des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative. L'analyse a été effectuée via des régressions de Cox. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, la taille et le sexe comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la condition d'humidité relative larvaire comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Taux de croissance + (1 Humidité relative larvaire)	1456,35	0,00
~ Taux de croissance + Sexe + (1 Humidité relative larvaire)	1457,09	0,74
~ Taux de croissance + Taille + (1 Humidité relative larvaire)	1458,26	1,91
...		
~ Taille + Sexe + (1 Humidité relative larvaire)	1467,56	11,21

Partie 1 – Chapitre 3

Tableau A.18 : Best models initially including Growth duration according to Δ AIC for Cellular immunity component (approached by the coordinates on the first principal component of an ACP) the individuals grown in the different temperature conditions (Larval environment: T20, T24 and T28). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Growth duration, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Growth duration, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC1 ~ Growth duration + Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Age at measurement : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2044.55	0.00
PC1 ~ Growth duration + Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Growth duration : Age at measurement + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2044.67	0.11
PC1 ~ Growth duration + Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Growth duration : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2044.67	0.11
PC1 ~ Growth duration + Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Growth duration : Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2045.90	1.35
PC1 ~ Growth duration + Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Sex + Age at measurement : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2046.54	1.99
...		
PC1 ~ Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2089.15	44.59

Tableau A.19: Best models initially including Growth duration according to Δ AIC for Enzymatic immunity component (approached by the coordinates on the second principal component of an ACP) the individuals grown in the different temperature conditions (Larval environment: T20, T24 and T28). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Growth duration, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Growth duration, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Growth duration + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1714.45	0.00
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Growth duration + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1714.71	0.26
PC2 ~ Challenge + Growth duration + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1715.14	0.69
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1715.77	1.32
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Growth duration + Sex + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1715.88	1.43
PC2 ~ Challenge + Age at measurement + Growth duration + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1715.91	1.46

PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1716.10	1.65
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Growth duration + Sex + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1716.21	1.76
...		
PC2 ~ Age at measurement + Growth duration + Sex + Growth duration : Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1773.89	59.44

Tableau A.20: Best models initially including Growth duration according to Δ AIC for Antibacterial activity component (approached by the coordinates on the third principal component of an ACP) the individuals grown in the different temperature conditions (Larval environment: T20, T24 and T28). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Growth duration, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Growth duration, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Growth duration + Age at measurement : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	981.61	0.00
PC3 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Growth duration + Age at measurement : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	983.29	1.68
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Growth duration + Sex + Age at measurement : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	983.57	1.96
...		
PC3 ~ Growth duration + Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1591.00	609.39

Tableau A.21: Best models initially including Adult longevity according to Δ AIC for Cellular immunity component (approached by the coordinates on the first principal component of an ACP) the individuals grown in the different temperature conditions (Larval environment: T20, T24 and T28). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Adult longevity, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Adult longevity, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC1 ~ Mass before challenge + Challenge + Adult longevity + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2053.93	0.00
PC1 ~ Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Adult longevity + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2054.10	0.17
PC1 ~ Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2054.96	1.03
PC1 ~ Mass before challenge + Challenge + Adult longevity + Adult longevity : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2055.58	1.65

PC1 ~ Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2055.68	1.75
PC1 ~ Mass before challenge + Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2055.75	1.82
PC1 ~ Mass before challenge + Challenge + Adult longevity + Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2055.89	1.96
...		
PC1 ~ Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	2089.15	35.22

Tableau A.22: Best models initially including Adult longevity according to Δ AIC for Enzymatic immunity component (approached by the coordinates on the second principal component of an ACP) the individuals grown in the different temperature conditions (Larval environment: T20, T24 and T28). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Adult longevity, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Adult longevity, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Adult longevity + Adult longevity : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1707.03	0.00
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Adult longevity + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1708.16	1.13
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Adult longevity + Age at measurement + Adult longevity : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1708.21	1.19
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Adult longevity + Sex + Adult longevity : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1708.31	1.28
...		
PC2 ~ Age at measurement + Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1771.60	64.57

Tableau A.23: Best models initially including Adult longevity according to Δ AIC for Antibacterial activity component (approached by the coordinates on the third principal component of an ACP) the individuals grown in the different temperature conditions (Larval environment: T20, T24 and T28). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Adult longevity, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Adult longevity, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC3 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Adult longevity + Age at measurement : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	995.28	0.00
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Age at measurement : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	995.32	0.04

PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	996.14	0.86
PC3 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Adult longevity + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	996.43	1.15
PC3 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	996.52	1.24
PC3 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Age at measurement + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	996.52	1.24
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Age at measurement + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	996.56	1.28
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	996.56	1.28
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Sex + Age at measurement : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	997.25	1.97
PC3 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Adult longevity + Sex + Age at measurement : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	997.28	2.00
...		
PC3 ~ Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1590.90	595.62

Tableau A.24: Best models initially including Growth duration according to ΔAIC for Cellular immunity component (approached by the coordinates on the first principal component of an ACP) the individuals grown in the different relative humidity conditions (Larval environment: H55, H70 and H85). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Growth duration, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Growth duration, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	ΔAIC
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + Sex + Growth duration + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1912.18	0.00
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + Sex + Growth duration + Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1913.35	1.17
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + Growth duration + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1913.74	1.56
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + Sex + Growth duration + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1913.98	1.81
...		
PC1 ~ Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1941.85	29.67

Tableau A.25: Best models initially including Growth duration according to Δ AIC for Enzymatic immunity component (approached by the coordinates on the second principal component of an ACP) the individuals grown in the different relative humidity conditions (Larval environment: H55, H70 and H85). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Growth duration, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Growth duration, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC2 ~ Challenge + Growth duration + Age at measurement + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1634.71	0.00
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Growth duration + Age at measurement + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1635.41	0.70
PC2 ~ Challenge + Growth duration + Age at measurement + Sex + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1635.46	0.75
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Growth duration + Age at measurement + Sex + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1635.79	1.08
PC2 ~ Challenge + Growth duration + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1636.07	1.36
PC2 ~ Challenge + Growth duration + Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1636.33	1.62
...		
PC2 ~ Age at measurement + Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1681.87	47.15

Tableau A.26: Best models initially including Growth duration according to Δ AIC for Antibacterial activity component (approached by the coordinates on the third principal component of an ACP) the individuals grown in the different relative humidity conditions (Larval environment: H55, H70 and H85). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Growth duration, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Growth duration, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Growth duration + Growth duration : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1039.22	0.00
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Growth duration + Growth duration : Age at measurement + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1039.22	0.00
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Growth duration + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1039.31	0.09
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Growth duration + Growth duration : Age at measurement + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1039.37	0.14
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Growth duration + Growth duration : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1039.37	0.14
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Growth duration + Growth duration : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1039.57	0.35

PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Growth duration + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1040.86	1.64
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Growth duration + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1040.90	1.67
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Growth duration + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1041.14	1.91
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Growth duration + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1041.19	1.96
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Growth duration + Age at measurement : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1041.22	1.99
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Growth duration + Sex + Growth duration : Age at measurement + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1041.22	2.00
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Growth duration + Sex + Growth duration : Challenge + Growth duration : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1041.22	2.00
...		
PC3 ~ Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1488.32	449.10

Tableau A.27: Best models initially including Adult longevity according to Δ AIC for Cellular immunity component (approached by the coordinates on the first principal component of an ACP) the individuals grown in the different relative humidity conditions (Larval environment: H55, H70 and H85). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Adult longevity, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Adult longevity, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1924.65	0.00
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + Sex + Adult longevity + Adult longevity : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1925.47	0.82
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + Sex + Adult longevity + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1925.83	1.18
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + Sex + Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1926.04	1.39
PC1 ~ Challenge + Mass before challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1926.46	1.81
...		
PC1 ~ Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1953.90	29.25

Tableau A.28: Best models initially including Adult longevity according to Δ AIC for Enzymatic immunity component (approached by the coordinates on the second principal component of an ACP) the individuals grown in the different relative humidity conditions (Larval environment: H55, H70 and H85). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Adult longevity, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Adult longevity, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC2 ~ Challenge + Age at measurement + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1649.36	0.00
PC2 ~ Challenge + Sex + Age at measurement + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1649.79	0.43
PC2 ~ Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1650.20	0.84
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Age at measurement + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1650.29	0.93
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + Sex + Age at measurement + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1650.33	0.97
PC2 ~ Challenge + Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1650.62	1.26
PC2 ~ Challenge + Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1651.08	1.72
PC2 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1651.35	1.99
PC2 ~ Challenge + Mass before challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1651.36	2.00
...		
PC2 ~ Sex + Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Age at measurement + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1694.25	44.89

Table A.29: Best models initially including Adult longevity according to Δ AIC for Antibacterial activity component (approached by the coordinates on the third principal component of an ACP) the individuals grown in the different relative humidity conditions (Larval environment: H55, H70 and H85). The worst model is given for information. The most completed model tested contained: the Adult longevity, the Age at measurement (young: ~15 days of adult stage or older: ~45 days of adult age), Challenge (before or after the immune challenge), the mass before the immune challenge, two and three variables interactions between Adult longevity, Age at measurement and Challenge. Models were linear mixed models with Larval environment and Individual as random effect.

Models	AIC	Δ AIC
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Age at measurement : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1061.44	0.00
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Adult longevity + Age at measurement : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1061.78	0.34
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Sex + Age at measurement : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1062.78	1.34

PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Adult longevity + Adult longevity : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1062.88	1.45
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Adult longevity + Sex + Age at measurement : Challenge + Adult longevity : Age at measurement : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1063.36	1.92
PC3 ~ Challenge + Age at measurement + Mass before challenge + Adult longevity + Adult longevity : Challenge + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1063.42	1.98
...		
PC3 ~ Adult longevity + Sex + (1 Individual) + (1 Larval environment)	1498.63	437.19

Partie 2 – Sénescence reproductive et performances reproductive précoces et tardives

Tableau A.30 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur la sénescence reproductive (approchée par l'indice de sénescence reproductive) des femelles de *T. molitor* des lignées consanguines. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement et son carré, la masse nymphale et la longévité adulte (en semaines) comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la lignée et les parents comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Temps de développement + Temps de développement² + (1 Lignée/Parents)	198,58	0,00
~ Temps de développement + Temps de développement ² + Longévité adulte + (1 Lignée/Parents)	198,86	0,28
~ Temps de développement + Temps de développement ² + Masse nymphale + (1 Lignée/Parents)	200,56	1,98
...		
~ 1 + (1 Lignée/Parents)	209,09	10,51

Tableau A.31 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur la sénescence reproductive (approchée par l'indice de sénescence reproductive) des femelles de *T. molitor* des lignées consanguines. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance et son carré, la masse nymphale et la longévité adulte (en semaines) comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la lignée et les parents comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Masse nymphale + Taux de croissance + (1 Lignée/Parents)	202,00	0,00
~ Masse nymphale + Longévité adulte + Taux de croissance + (1 Lignée/Parents)	202,41	0,41
~ Masse nymphale + Taux de croissance ² + Taux de croissance + (1 Lignée/Parents)	203,78	1,79
...		
~ Taux de croissance ² + Taux de croissance + (1 Lignée/Parents)	211,87	9,88

Tableau A.32 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur le nombre d'œufs pondus tôt et tard dans leur vie par les femelles de *T. molitor* des lignées consanguines. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la lignée, les parents et l'individu comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Temps de développement + Temps de développement : Période de reproduction + (1 Lignée/Parents/Individu)	6536,11	0,00
...		
~ 1 + (1 Lignée/Parents/Individu)	6755,48	219,37

Tableau A.33 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur le nombre d'œufs pondus tôt et tard dans leur vie par les femelles de *T. molitor* des lignées consanguines. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la lignée, les parents et l'individu comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Taux de croissance + Taux de croissance : Période de reproduction + (1 Lignée/Parents/Individu)	6554,26	0,00
...		
~ 1 + (1 Lignée/Parents/Individu)	6755,48	201,22

Tableau A.34 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur la sénescence reproductive (approchée par l'indice de sénescence reproductive) en moyennes des femelles des lignées de *T. molitor*. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement et son carré, la masse nymphale et la longévité adulte (en semaines) comme variables. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Temps de développement ²	-32.06	0.00
~ Temps de développement	-32.05	0.01
~ 1	-31.45	0.61
~ Temps de développement + Masse nymphale	-31.11	0.95
~ Temps de développement ² + Masse nymphale	-31.03	1.03
~ Temps de développement + Longévité adulte	-30.25	1.81
~ Temps de développement ² + Longévité adulte	-30.24	1.82
~ Temps de développement ² + Temps de développement	-30.07	1.99
...		
~ Masse nymphale + Longévité adulte	-27.60	4.46

Tableau A.35 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur la sénescence reproductive (approchée par l'indice de sénescence reproductive) en moyennes des femelles des lignées de *T. molitor*. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance et son carré, la masse nymphale et la longévité adulte (en semaines) comme variables. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (Δ AIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Taux de croissance ² + Masse nymphale	-32.55	0.00
~ Taux de croissance + Masse nymphale	-32.48	0.07
~ 1	-31.45	1.10
~ Taux de croissance ² + Masse nymphale + Longévité adulte	-30.82	1.73
~ Taux de croissance + Masse nymphale + Longévité adulte	-30.75	1.80
~ Taux de croissance ²	-30.72	1.83
~ Taux de croissance	-30.69	1.86
~ Taux de croissance ² + Taux de croissance + Masse nymphale	-30.68	1.87
...		
~ Taux de croissance ² + Taux de croissance + Longévité adulte	-27.02	5.53

Tableau A.36 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du temps de développement sur le nombre moyen par lignée consanguine de *T. molitor* d'œufs pondus tôt et tard dans leur vie par les femelles. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la lignée comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Temps de développement + (1 Lignée)	181.58	0.00
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Temps de développement + Longévité adulte : Période de reproduction + (1 Lignée)	182.63	1.05
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Temps de développement + Temps de développement : Période de reproduction + (1 Lignée)	182.87	1.29
...		
~ Temps de développement + (1 Lignée)	227.70	46.12

Tableau A.37 : Meilleurs modèles pour l'analyse de l'effet du taux de croissance sur le nombre moyen par lignée consanguine de *T. molitor* d'œufs pondus tôt et tard dans leur vie par les femelles. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, la masse avant la reproduction, la période de reproduction (précoce ou tardive), la longévité adulte, l'interaction entre le temps de développement et la période de reproduction, ainsi que l'interaction entre longévité adulte et période de reproduction comme variables. Les modèles sont des modèles mixtes incluant la lignée comme facteur aléatoire. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Période de reproduction + Longévité adulte + Taux de croissance + Taux de croissance : Période de reproduction + (1 Lignée)	180.75	0.00
~ Période de reproduction + Masse avant reproduction + Longévité adulte + Taux de croissance + Taux de croissance : Période de reproduction + (1 Lignée)	182.75	1.99
...		
~ 1 + (1 Lignée)	225.83	45.07

Partie 2 – Sénescence actuarielle et longévité

Tableau A.38 : Sélection de modèles pour l'effet du temps de développement sur la longévité des *T. molitor* issus des 14 lignées consanguines. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, la masse nymphale et le sexe. Les modèles étaient des modèles mixtes avec la lignée consanguine et les parents comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Temps de développement + Masse nymphale + Sexe + (1 Lignée/Parents)	5432,55	0,00
...		
~ 1 + (1 Lignée/Parents)	5572,90	140,35

Tableau A.39 : Sélection de modèles pour l'effet du taux de croissance sur la longévité des *T. molitor* issus des 14 lignées consanguines. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, la masse nymphale et le sexe. Les modèles étaient des modèles mixtes avec la lignée consanguine et les parents comme facteurs aléatoires. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Taux de croissance + Sexe + (1 Lignée/Parents)	5432,09	0,00
~ Taux de croissance + Masse nymphale + Sexe + (1 Lignée/Parents)	5434,09	2,00
...		
~ 1 + (1 Lignée/Parents)	5572,90	140,81

Tableau A.40 : Sélection de modèles pour l'effet du temps de développement sur la longévité des lignées consanguines de *T. molitor* considérées via leurs moyennes. Le modèle le plus complexe incluait le temps de développement, son carré et la masse nymphale. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ Temps de développement + Temps de développement²	60,55	0,00
~ Masse nymphale + Temps de développement + Temps de développement ²	62,15	1,60
...		
~ Masse nymphale + Temps de développement	67,50	6,95

Tableau A.41 : Sélection de modèles pour l'effet du taux de croissance sur la longévité des lignées consanguines de *T. molitor* considérées via leurs moyennes. Le modèle le plus complexe incluait le taux de croissance, son carré et la masse nymphale. Tous les modèles statistiques ayant une différence d'AIC (ΔAIC) inférieure ou égale à 2 par rapport au modèle ayant le plus faible AIC sont présentés ici. Le modèle inclus dans le corps de la thèse est en gras.

Modèles	AIC	ΔAIC
~ 1	65,26	0,00
~ Taux de croissance	65,89	0,62
~ Masse nymphale	65,94	0,67
~ I(Taux de croissance ²)	65,95	0,68
~ Taux de croissance + I(Taux de croissance ²)	66,59	1,33
...		
~ Taux de croissance + Masse nymphale + I(Taux de croissance ²)	68,44	3,18

Tableau A.42 : Sélection de modèles pour l'étude de l'effet du temps de développement sur les probabilités de survie des *T. molitor* issus des 14 lignées consanguines via une régression de Cox.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Temps de développement + log(temps):Temps de développement + Taille + log(temps):Taille + Sexe + log(temps):Sexe + (1 Lignée/Parents)	9723,02	0,00
...		
~ 1 + (1 Lignée/Parents)	10131,81	408,79

Tableau A.43 : Sélection de modèles pour l'étude de l'effet du taux de croissance sur les probabilités de survie des *T. molitor* issus des 14 lignées consanguines via une régression de Cox.

Modèles	AIC	Δ AIC
~ Taux de croissance + log(temps):Taux de croissance + Taille + log(temps):Taille + Sexe + log(temps):Sexe + (1 Lignée/Parents)	9725,87	0,00
...		
~ 1 + (1 Lignée/Parents)	10131,81	405,94

Tableau A.44 : Sélection de modèles statistiques pour l'effet de (A) le temps de développement et (B) le taux de croissance moyens des lignées de *T. molitor* sur les paramètres de sénescence actuarielle (en colonne). Les AIC en gras correspondent à ceux des modèles considérés dans les résultats de la thèse.

(A) Temps de développement

Modèle	AIC pour b	AIC pour ω	AIC pour le seuil
~ Temps de développement + Temps de développement ²	-34,22	-80,36	53,79
~ Temps de développement	-34,32	-81,72	63,59
~ 1	-35,28	-83,69	61,69

(B) Taux de croissance

Modèle	AIC pour b	AIC pour ω	AIC pour le seuil
~ Taux de croissance + Taux de croissance ²	-38,5	-81,11	62,86
~ Taux de croissance	-35,38	-81,83	62,76
~ 1	-35,28	-83,69	61,69

Annexe 2 : Modélisation des taux de mortalité âge-spécifiques des *T. molitor* ayant grandi dans différentes conditions de température et d'humidité relative – Détermination du seuil à partir des points expérimentaux

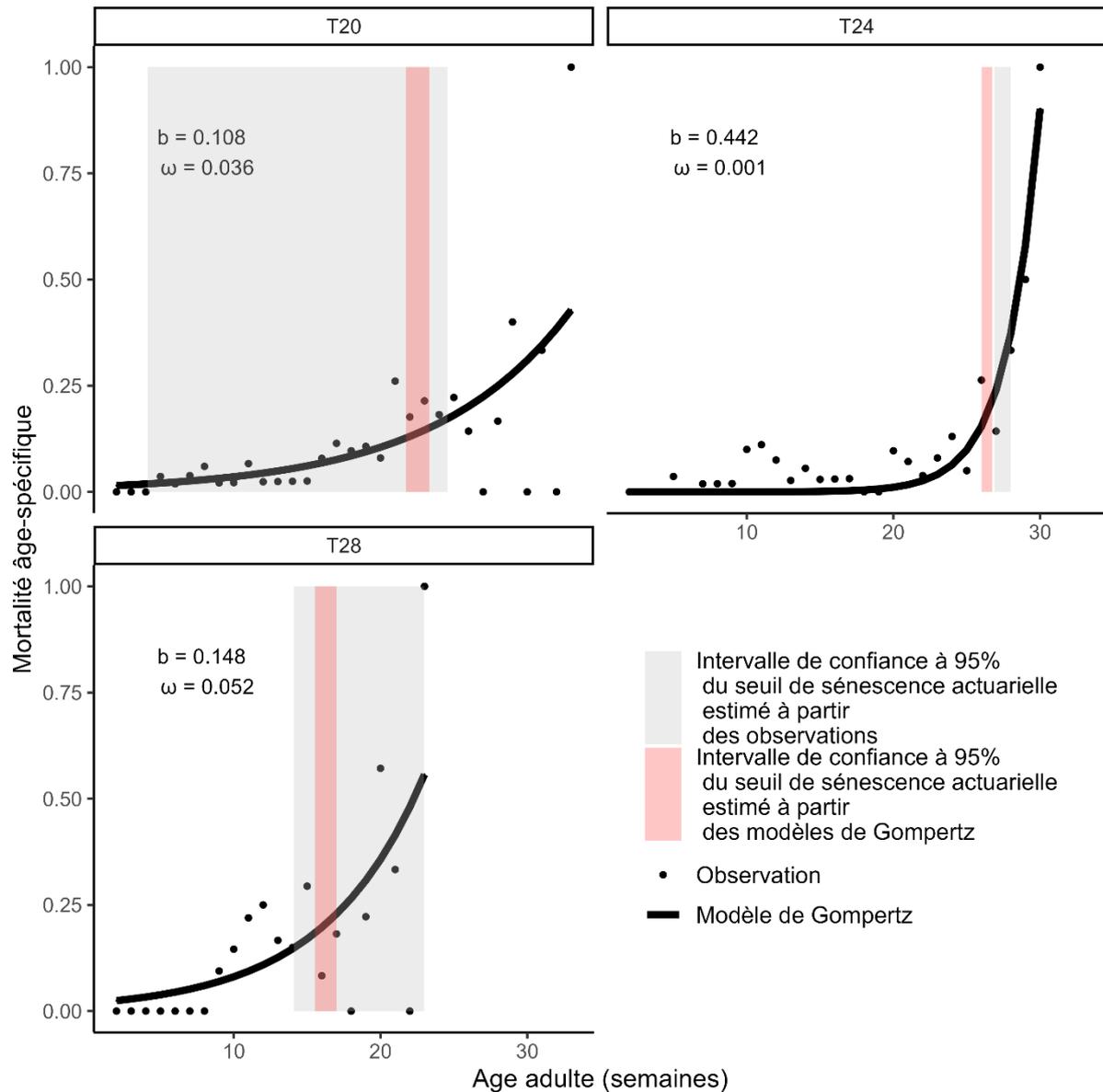


Figure A.2 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalités âge-spécifiques des *T. molitor* ayant grandi à différentes températures larvaires. Les 10% d'individus les plus longévifs pour chaque groupe ont été retirés avant de calculer les mortalités âge-spécifiques. b est le coefficient de Gompertz associé à la sénescence actuarielle. ω est l'indice de sénescence actuarielle calculé à partir des deux paramètres du modèle de Gompertz. Le dernier paramètre de sénescence actuarielle est le seuil à partir duquel elle commence (en rouge) déterminé avec les prédictions du modèle de Gompertz et (en gris) déterminé à partir des points expérimentaux directement.

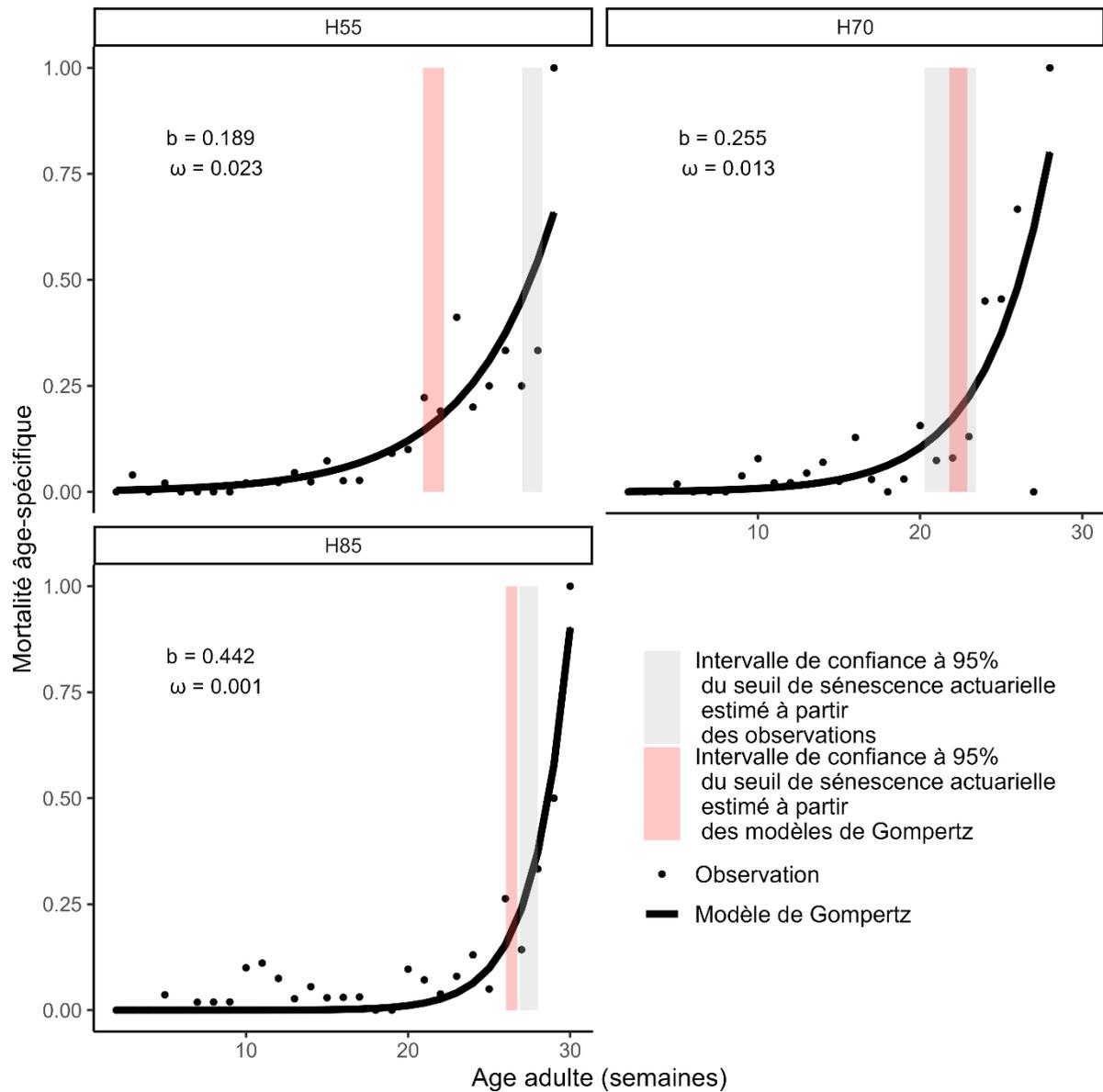


Figure A.3 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalités âge-spécifiques des *T. molitor* ayant grandi à différentes humidités relatives larvaires. Les 10% d'individus les plus longévifs pour chaque groupe ont été retirés avant de calculer les mortalités âge-spécifiques. b est le coefficient de Gompertz associé à la sénescence actuarielle. ω est l'indice de sénescence actuarielle calculé à partir des deux paramètres du modèle de Gompertz. Le dernier paramètre de sénescence actuarielle est le seuil à partir duquel elle commence (en rouge) déterminé avec les prédictions du modèle de Gompertz et (en gris) déterminé à partir des points expérimentaux directement.

Annexe 3 : Caractéristiques des individus (mâles et femelles) s'étant développés dans les trois conditions de température et les trois conditions d'humidité relative

Températures larvaires

Les différentes conditions de température larvaires nous ont permis d'obtenir des individus avec différents temps de développement ($\chi^2 = 124,89$; d.l. = 2 ; $p < 0,0001$; Figure A.4 A). Ainsi, les individus, mâles ou femelles, ayant grandi à 20°C se sont développés plus lentement que les deux autres conditions de température. Ces deux dernières étaient similaires. Le taux de développement suit le même pattern ($F = 72,30$; d.l. = 2 ; $p < 0,0001$; Figure A.4 C), avec le taux moyen le plus faible chez les T20 et des taux moyens plus élevés chez les T24 et T28, qui sont similaires entre eux.

Du point de vue de la longévité au stade adulte, T20 et T24 sont similaires et vivent plus longtemps que les individus ayant grandi à 28°C (Figure A.4 E et Tableau A.45).

Les *T. molitor* qui se sont développés dans les trois conditions de température étaient similaires pour leur masse nymphale ($\chi^2 = 0,45$; d.l. = 2 ; $p = 0,80$; Figure A.4 B) et de la longueur de leurs élytres ($F = 1,75$; d.l. = 2 ; $p = 0,18$; Figure A.4 D).

Comme dit précédemment, le sexe n'avait pas d'effet significatif sur ces variables (temps de développement : $\chi^2 = 3,45$; d.l. = 1 ; $p = 0,06$; masse nymphale : $\chi^2 = 0,57$; d.l. = 1 ; $p = 0,45$; taux de développement : $F = 1,64$; d.l. = 1 ; $p = 0,20$; longueur des élytres : $F = 0,31$; d.l. = 1 ; $p = 0,58$ et longévité : $\chi^2 = 0,01$; d.l. = 1 ; $p = 0,93$). On peut cependant remarquer un effet marginal du sexe dans le cas du temps de développement. Les femelles auraient un développement légèrement plus court que celui des mâles (femelles : 111 ± 2 jours et mâles : 116 ± 2 jours).

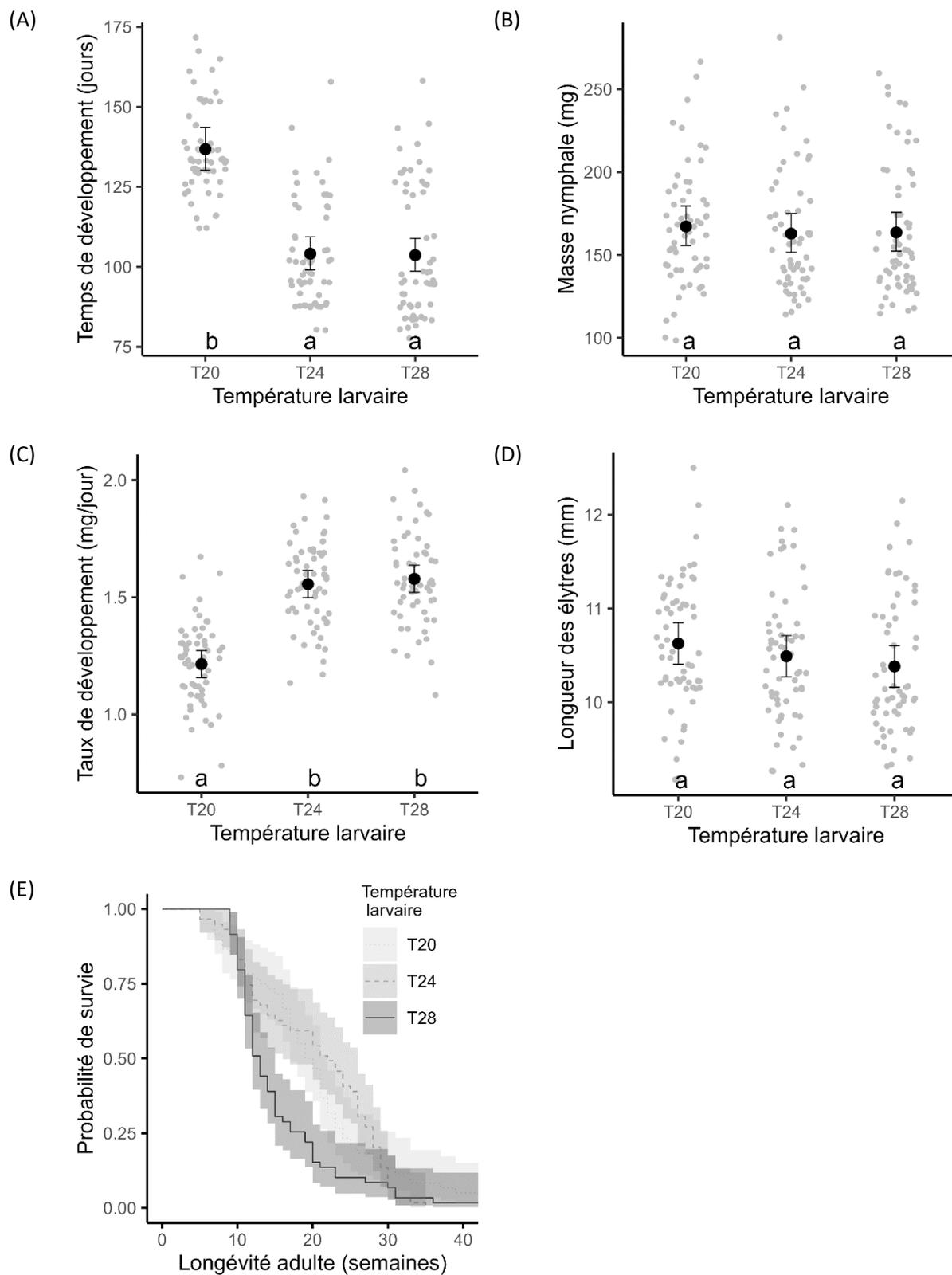


Figure A.4: Caractéristiques des individus ayant grandi dans différentes conditions de température. (A) Temps de développement larvaire, (B) Masse nymphale, (C) Taux de développement larvaire, (D) Longueur des élytres et (E) Probabilité de survie en fonction de l'âge.

Tableau A.45 : Résultats de la régression de Cox pour les individus ayant grandi dans différentes conditions de température larvaires.

Variabes	β	e.s.	e(β)	Wald	χ^2	d.l.	p
Température					9,56	2	0,009
T20 vs T24	-0,01	0,19	0,99	-0,06			0,96
T28 vs T24	0,51	0,2	1,66	2,6			0,0095
T20 vs T28	-0,51	0,19	0,6	-2,76			0,006
Mâle vs Femelle	0,01	0,16	1,01	0,09	0,01	1	0,929

Humidités relatives larvaires

Modifier l'humidité relative à la hausse par rapport aux conditions standard avec la condition H85 lors de la phase larvaire des *T. molitor* nous a permis d'obtenir des individus avec des développements plus courts (Figure A.5 A). Au contraire, une baisse de l'humidité relative, ici la condition H55, a allongé le temps de développement des larves en comparaison des conditions standard, H70 (Figure A.5 A).

Les masses nymphales et les longueurs des élytres des trois conditions d'humidité relative suivent une tendance inverse au temps de développement. Les larves qui ont grandi dans les conditions les plus humides étaient les nymphes les plus lourdes et les adultes les plus grands (Figures A.5 B et D). Au contraire, celles s'étant développées à 55% HR étaient plus tard dans leur vie, les nymphes les plus légères et les adultes les plus petits (Figures A.5 B et D).

Le taux de développement étant calculé à partir du temps de développement et de la masse nymphale, il est logique que les larves ayant grandi à 85% HR soient les plus rapides et celles ayant grandi à 55% HR les plus lentes (Figure A.5 C).

Contrairement aux résultats obtenus avec les femelles (Chapitre 1-B-4-a Figure 1.1), les survies au stade adulte des trois groupes d'humidité relative sont similaires (Tableau A.46 et Figure A.5 E). Cela nous fait suspecter une interaction entre le sexe et la condition larvaire d'humidité relative, en particulier au détriment des femelles pour la condition H85. Cependant, comme expliqué précédemment, la recherche des effets conjoints du sexe et du développement (ou de la condition environnementale) n'était pas notre objectif ici.

Il n'y avait pas de différence globale entre mâles et femelles pour la masse nymphale ($\chi^2 = 0,13$; d.l. = 1 ; p = 0,72), la longueur des élytres ($\chi^2 = 1,68$; d.l. = 1 ; p = 0,20) et la survie au stade adulte (Table 1.11). Comme pour les individus issus des conditions de température larvaires, il semble y avoir une tendance chez les femelles à avoir des développements un peu plus courts que les mâles ($\chi^2 = 3,76$; d.l. = 1 ; p = 0,053 ; femelles : 123 ± 2 jours et mâles : 127 ± 2 jours). Quand on s'intéresse au taux de

développement, cette tendance devient beaucoup plus robuste ($\chi^2 = 7,17$; d.l. = 1 ; $p = 0,007$) avec les femelles qui se développent plus rapidement que les mâles (femelles : $1,06 \pm 0,01$ mg/jour et mâles : $1,01 \pm 0,01$ mg/jour).

Tableau A.46 : Résultats de la régression de Cox pour les individus ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative larvaires.

Variables	β	e.s.	e(β)	Wald	χ^2	d.l.	p
Humidité relative					0,42	2	0,81
H55 vs H70	-0,01	0,19	0,99	-0,05			0,96
H85 vs H70	-0,12	0,2	0,89	-0,58			0,56
H55 vs H85	0,11	0,19	1,11	0,56			0,58
Mâle vs Femelle	-0,19	0,16	0,82	-1,19	1,42	1	0,23

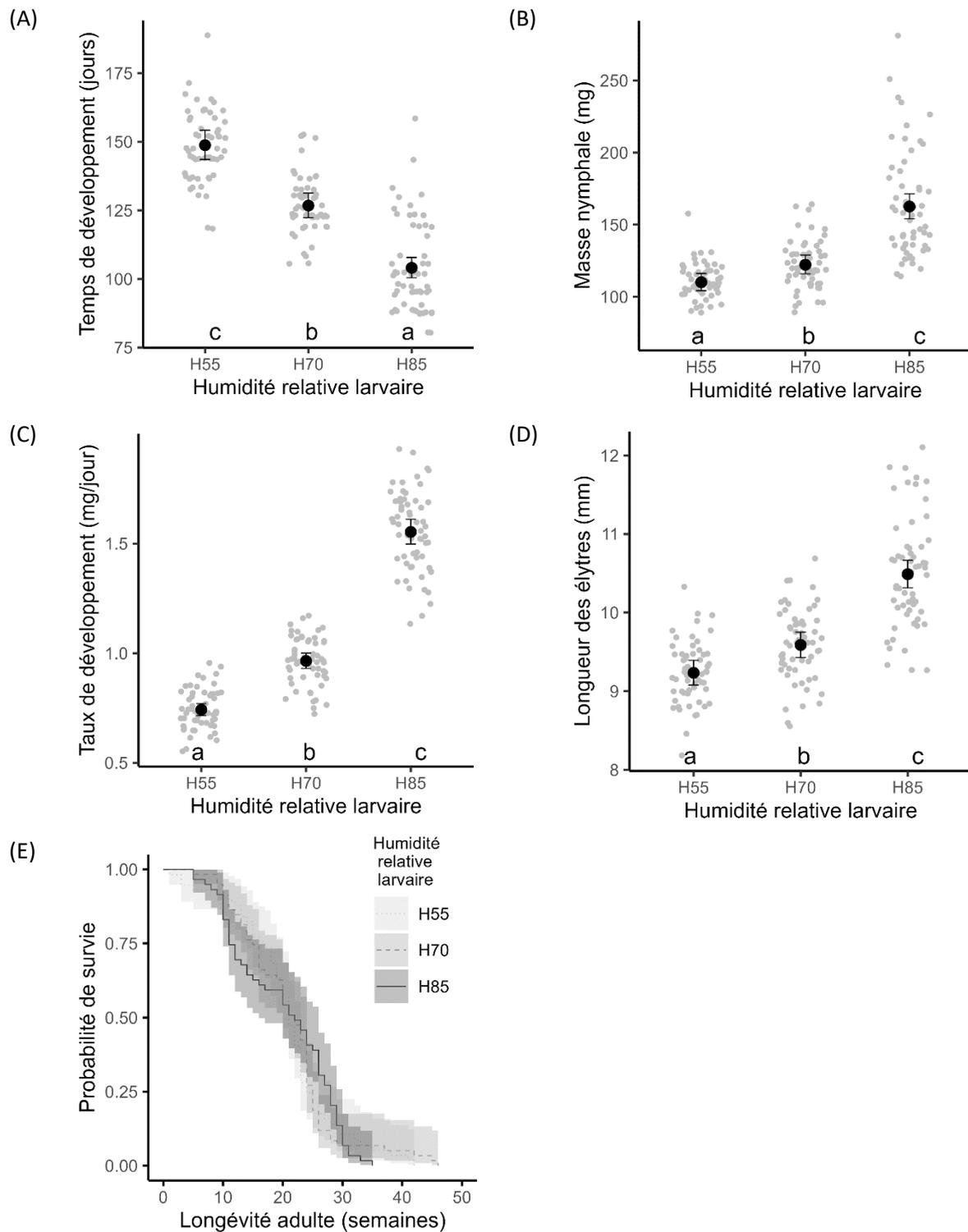


Figure A.5 : Caractéristiques des individus ayant grandi dans différentes conditions d'humidité relative. (A) Temps de développement larvaire, (B) Masse nymphale, (C) Taux de développement larvaire, (D) Longueur des élytres et (E) Probabilité de survie en fonction de l'âge.

Annexe 4 : Modélisation des taux de mortalité âge-spécifiques des *T. molitor* des lignées consanguines – Valeurs de a , b et S et Détermination du seuil à partir des points expérimentaux

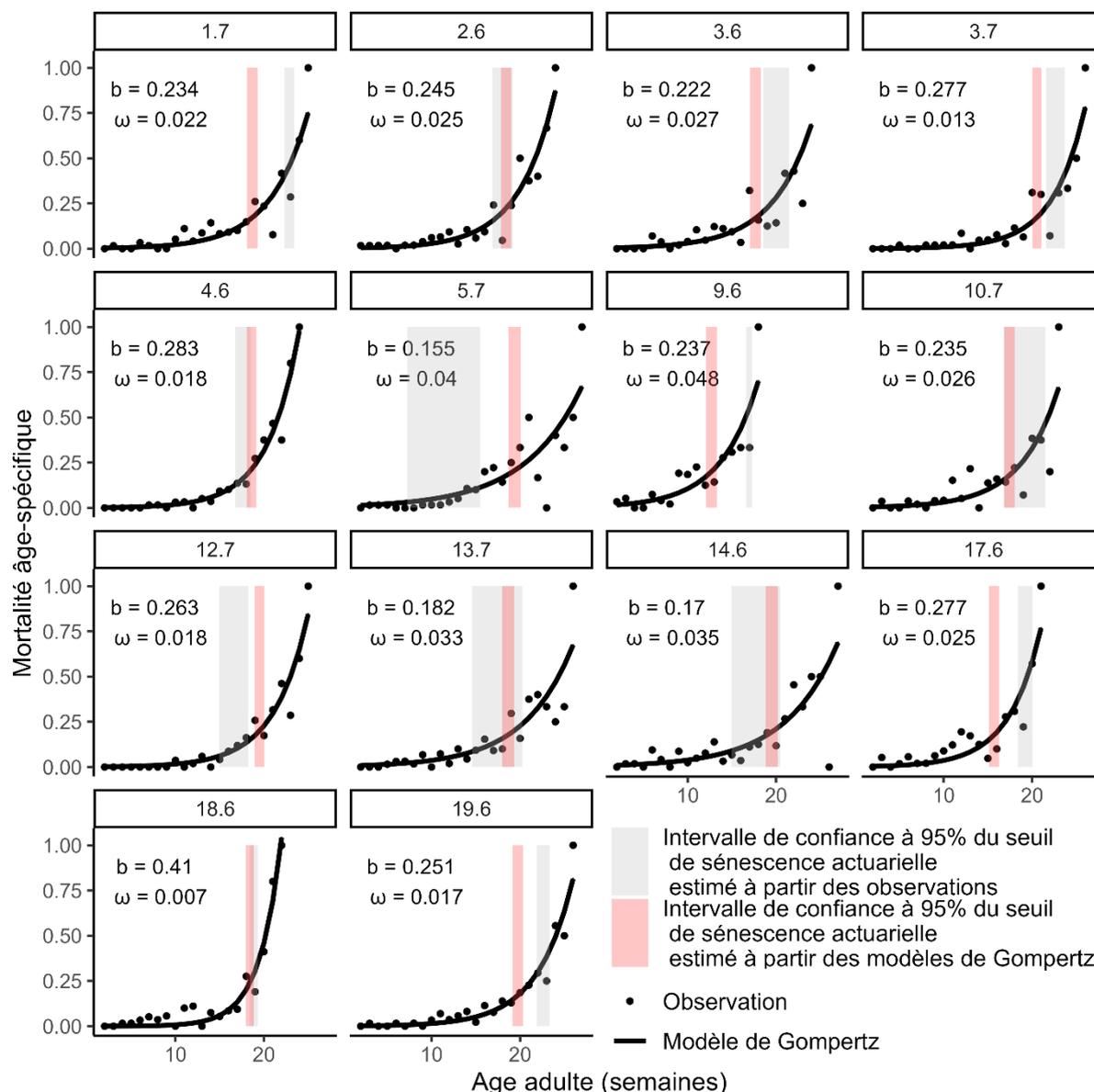


Figure A.6 : Représentation des différents paramètres de sénescence actuarielle déterminés à partir des mortalité âge-spécifiques des *T. molitor* des 14 lignées consanguines. Les 5% d'individus les plus longévifs pour chaque groupe ont été retirés avant de calculer les mortalités âge-spécifiques. b est le coefficient de Gompertz associé à la sénescence actuarielle. ω est l'indice de sénescence actuarielle calculé à partir des deux paramètres du modèle de Gompertz. Le dernier paramètre de sénescence actuarielle est le seuil à partir duquel elle commence (en rouge) déterminé avec les prédictions du modèle de Gompertz et (en gris) déterminé à partir des points expérimentaux directement.

Tableau A.47 : Paramètres de sénescences actuarielles des lignées consanguines de *T. molitor*.

Lignée	a	a IC95%	b	b IC95%	Indice de sénescence ω	Seuil de sénescence Observations	Seuil de sénescence Observations IC95%	Seuil de sénescence Gompertz	Seuil de sénescence Gompertz IC95%
1.7	0,002	[-0,001 ; 0,005]	0,234	[0,172 ; 0,296]	0,022	22,9	[22,3 ; 23,4]	18,7	[18,1 ; 19,3]
2.6	0,002	[0 ; 0,005]	0,245	[0,19 ; 0,299]	0,025	18	[16,9 ; 19,1]	18,4	[17,8 ; 19]
3.6	0,003	[-0,002 ; 0,009]	0,222	[0,144 ; 0,301]	0,027	20	[18,6 ; 21,4]	17,7	[17 ; 18,3]
3.7	0,001	[0 ; 0,002]	0,277	[0,202 ; 0,353]	0,013	22,6	[21,6 ; 23,7]	20,5	[20 ; 21,1]
4.6	0,001	[0 ; 0,002]	0,283	[0,246 ; 0,319]	0,018	17,6	[16,8 ; 18,5]	18,6	[18,1 ; 19,1]
5.7	0,01	[-0,001 ; 0,022]	0,155	[0,106 ; 0,204]	0,04	11,4	[7,3 ; 15,5]	19,4	[18,7 ; 20,1]
9.6	0,01	[-0,003 ; 0,023]	0,237	[0,152 ; 0,322]	0,048	17	[16,6 ; 17,3]	12,7	[12,1 ; 13,3]
10.7	0,003	[-0,003 ; 0,009]	0,235	[0,139 ; 0,331]	0,026	19,1	[16,8 ; 21,5]	17,4	[16,8 ; 18]
12.7	0,001	[0 ; 0,002]	0,263	[0,216 ; 0,309]	0,018	16,6	[14,9 ; 18,2]	19,5	[18,9 ; 20]
13.7	0,006	[-0,001 ; 0,013]	0,182	[0,133 ; 0,231]	0,033	17,4	[14,6 ; 20,3]	18,7	[18 ; 19,3]
14.6	0,007	[-0,002 ; 0,016]	0,17	[0,116 ; 0,223]	0,035	17,7	[15 ; 20,4]	19,5	[18,8 ; 20,2]
17.6	0,002	[-0,002 ; 0,006]	0,277	[0,186 ; 0,368]	0,025	19,2	[18,4 ; 20]	15,7	[15,1 ; 16,3]
18.6	0	[0 ; 0]	0,41	[0,323 ; 0,497]	0,007	18,9	[18,4 ; 19,3]	18,4	[18 ; 18,8]
19.6	0,001	[0 ; 0,002]	0,251	[0,21 ; 0,292]	0,017	22,6	[21,9 ; 23,3]	19,7	[19,2 ; 20,3]

Annexe 5 : Priming immunitaire chez un insecte : effet du temps de développement et de l'âge auquel le priming est effectué. Par Mazzarine Laboureau.



Mémoire de stage de Master Deuxième année
Année universitaire 2022-2023
Université de Bourgogne, Master BEE parcours Dynamique et Conservation de Biodiversité.

PRIMING IMMUNITAIRE CHEZ UN INSECTE : EFFET DU TEMPS DE DÉVELOPPEMENT ET DE L'ÂGE AUQUEL LE PRIMING EST EFFECTUÉ.

Par **Mazzarine Laboureau**

Stage réalisé sous la direction de
Agathe Crosland, Doctorante
Yannick Moret, Directeur de recherche au CNRS
Thierry Rigaud, Directeur de recherche au CNRS

Laboratoire biogéoscience de l'Université de Bourgogne



Remerciements :

Je voudrais exprimer un énorme merci à toutes les personnes qui ont joué un rôle essentiel pendant mon stage mais aussi durant mon master. Votre soutien, vos conseils et le partage de vos connaissances ont vraiment contribué à mon apprentissage.

Agathe Crosland, un merci tout spécial pour ton accompagnement toujours positif. Tes explications claires en statistiques m'ont énormément aidé, et savoir que je pouvais compter sur toi était vraiment rassurant.

Yannick Moret, tes bons conseils ont vraiment été super importants. Ta disponibilité et ta manière directe de partager ton expertise ont été vraiment précieuses et appréciées.

Un grand merci à Thierry Rigaud pour tes conseils éclairés surtout pour les schémas, qui ont vraiment éclairci mes idées.

Charlène, je t'en suis vraiment reconnaissante de m'avoir guidée à travers les détails de la microbiologie et dans l'utilisation des labos. Ton soutien a été super précieux.

Aude, un grand merci pour ton aide au laboratoire et l'élevage, et d'avoir pris le temps de répondre à mes questions.

Je veux adresser un grand merci à Jérôme Moreau, pour m'avoir guidé tout au long de mon parcours. Son soutien et son écoute attentive ont été vraiment décisifs, et grâce à ça, je peux continuer dans la recherche.

À la classe de M2 DYCOB, la meilleure classe que j'ai jamais eu, je veux aussi dire merci. Notre soutien mutuel a créé une super ambiance qui a été une source constante de motivation.

Je veux vraiment vous exprimer à tous ma sincère gratitude. Vos contributions ont rendu mon stage et mon master enrichissants et mémorables.

Présentation de l'organismes d'accueil :

Le Laboratoire Biogéoscience, équipe écologie évolutive le laboratoire Biogéoscience, créé en 1971, est une unité mixte de recherche (UMR) en relation avec l'université de Bourgogne, le CNRS, l'EPHE et AgroSup Dijon. Il est composé de cinq équipes scientifiques : équipe BioME (émergence et maintien de la biodiversité), CRC (centre de recherches de climatologie), Eco-évo (écologie évolutive), SAMBA (structuration des communautés aquatiques et biominéralisation) et SEDS (systèmes, environnements et dynamique sédimentaires). Ce laboratoire traite d'un grand nombre de thématiques comme les interactions entre les processus biologiques et géologiques. À quelles échelles spatiales et temporelles opèrent ces processus ? Quels sont les liens entre écologie et évolution ? Ou encore quels sont les effets multi-échelle du changement global ?

L'équipe Eco-évo (écologie évolutive) se centre sur la compréhension des mécanismes qui structurent la biodiversité. Elle étudie le rôle des interactions entre organismes, leur altération ou leur évolution sur la dynamique de la biodiversité et les conséquences fonctionnelles de ces interactions. L'objectif de cette équipe est de renforcer la compréhension de ces thématiques sur deux axes principaux :

- Les interactions interspécifiques : s'intéresser à la dynamique évolutive des interactions hôtes-parasites et des interactions plantes-animaux.
- Les interactions intraspécifiques : étudier le rôle de la compétition sur les aspects qualitatifs ou quantitatifs des interactions entre individus et plus précisément sur les stratégies de décisions chez des individus en compétition et les processus de sélection sexuelle.

Pour étudier ces thématiques, l'équipe Eco-évo s'intéresse à une large diversité d'interactions biotiques sur plusieurs niveaux d'organisation. Ces études sont basées sur des recherches descriptives et expérimentales avec des approches *in situ* et en laboratoire.

Sommaire

Remerciements

Présentation de l'organisme d'accueil

Introduction.....1

Matériel et méthodes.....5

Origine des insectes et plan expérimental.....5

Culture de *Bacillus Cereus*, priming et test de survie.....8

Collecte d'hémolymphe et mesure de l'activité antibactérienne.....8

Estimation de la taille des insectes par la mesure de leurs élytres.....10

Analyse statistique.....10

Résultats.....12

Caractérisation des lignées.....12

Temps de développement des lignées.....12

Survie des lignées.....13

Expérience testant l'influence du développement et de la durée de vie sur l'investissement au priming immunitaire estimé en termes de survie à une infection ultérieure.....15

Effet du traitement.....15

Analyse de l'investissement au priming en termes de survie à une infection ultérieure.....16

Analyse de l'investissement au priming immunitaire en termes de maintien d'activité antibactérienne de l'hémolymphe.....18

Effet du traitement.....18

Présence des cercles d'inhibition.....19

Diamètres des cercles d'inhibition.....19

Discussion.....21

Conclusion.....25

Annexes

Bibliographie

Résumé

Introduction

Face au parasitisme et à ses contraintes sur la valeur sélective des hôtes, ces derniers ont évolué divers mécanismes de défense, dont les défenses immunitaires. Cependant, l'investissement dans l'immunité est coûteux (Forbes 1993 ; Moret and Schmid-Hempel 2000 ; Kirschman et al. 2017). Il peut donc être avantageux d'ajuster la réponse immunitaire de manière flexible en fonction du niveau de risque d'infection. Bien que les attaques de parasites et de pathogènes soient souvent imprévisibles, elles se répètent régulièrement. Ainsi, une première interaction avec ces ennemis naturels peut permettre à l'individu de percevoir de manière fiable un risque accru d'infection ultérieure.

La réponse immunitaire acquise des vertébrés est un exemple d'ajustement immunitaire suite à une exposition antérieure à un parasite ou à un agent pathogène. Elle se caractérise par une mémoire immunitaire qui offre une protection renforcée et spécifique contre les agents pathogènes auxquels l'hôte a été exposé. Cette réponse repose sur l'action de cellules immunitaires clés, telles que les lymphocytes T et B, qui produisent une grande diversité de récepteurs spécifiques aux agents infectieux (les anticorps) grâce à un processus de recombinaison somatique (Zimmerman et al. 2010).

Contrairement aux vertébrés, les invertébrés ne possèdent pas les effecteurs immunitaires tels que les lymphocytes et les immunoglobulines, qui sont responsables de la réponse immunitaire acquise. Leur immunité repose principalement sur des récepteurs innés codés par la lignée germinale qui reconnaissent des épitopes microbiens génériques conservés (Hoffmann 1995). Pendant longtemps, il était considéré que les invertébrés étaient incapables de développer une immunité acquise. Cependant, des travaux pionniers ont montré que l'injection d'un extrait de levure pouvait conférer une protection contre le syndrome des taches blanches (ou white spot syndrome - WSS) chez la crevette tigre (*Penaeus monodon*), et cette résistance acquise était transmissible à la génération suivante (Huang and Song 1999). Depuis cette découverte, des preuves soutenant l'existence d'une mémoire immunitaire innée, voire spécifique, chez les invertébrés se sont accumulées (Milutinović and Kurtz 2016). Ce phénomène, où le système immunitaire inné des invertébrés améliore son efficacité en fonction de son expérience passée avec les agents pathogènes, est appelé "priming immunitaire" pour le distinguer de la réponse immunitaire acquise observée chez les vertébrés (Little and Kraaijeveld 2004). Une caractéristique remarquable du priming immunitaire est qu'il se produit non seulement au sein d'un individu donné, où une stimulation immunitaire chez un individu naïf entraîne une réponse immunitaire plus forte, mais il se produit également d'une génération à l'autre. Ainsi, une

stimulation immunitaire chez un individu peut conduire, chez certaines espèces, au transfert d'immunité à sa descendance. Ce transfert d'immunité des parents à la descendance est souvent appelé « priming immunitaire transgénérationnel » (Tetreau et al. 2019).

L'existence du priming immunitaire chez les invertébrés suscite actuellement de nombreux efforts pour élucider les mécanismes moléculaires et physiologiques impliqués. Par contre, les questions relatives à la valeur sélective du priming immunitaire et aux conditions de son évolution restent relativement peu explorées (Moret et al. 2018 ; Tetreau et al. 2019). Pour être adaptatif, le priming immunitaire doit au moins être héréditaire et offrir un avantage sélectif significatif à l'hôte en réponse à des infections répétées par des parasites ou des agents pathogènes. De nombreuses études en laboratoire ont montré une amélioration de la survie à une infection pathogénique sublétales après une exposition préalable à une faible dose d'agent pathogène chez de nombreuses espèces d'invertébrés (Milutinović and Kurtz 2016). De plus, des travaux récents ont mis en évidence une variation de l'expression du priming immunitaire contre *Bacillus thuringiensis* parmi différentes populations de *Tribolium castaneum* en Inde, suggérant un déterminisme génétique de cette réponse immunitaire (Khan et al. 2019). Cependant, bien que ces conditions (détermination génétique et expression bénéfique) soient nécessaires pour attester de la valeur adaptative du priming immunitaire, elles ne sont pas suffisantes. Il est possible que le priming immunitaire soit simplement le résultat de réactions immunitaires persistantes sans qu'il n'y ait nécessairement adaptation spécifique aux rencontres ultérieures avec les pathogènes. La possibilité que le priming immunitaire puisse être induit par divers stress non parasitaires ou pathogènes, tels que des chocs thermiques ou des stress physiques (Eggert et al. 2015) remet en question l'hypothèse adaptative du priming immunitaire. Cependant, la spécificité de la réponse de priming envers le parasite ou l'agent pathogène qui l'a induite chez certaines espèces, comme chez le bourdon (Sadd and Schmid-Hempel 2007) et certains coléoptères (Roth et al. 2009), suggère une adaptation du priming immunitaire résultant d'une coévolution étroite (Moret et al. 2018). Néanmoins, un tel niveau de spécificité n'est pas toujours observé et une spécificité croisée du priming immunitaire peut aussi être adaptative car protégeant malgré tout l'hôte.

La valeur adaptative du priming immunitaire peut aussi être évaluée en considérant les coûts associés qui pourraient limiter sa sélection. Bien que le priming immunitaire améliore la survie lors de réinfections, il peut entraîner des compromis avec d'autres traits coûteux de l'histoire de vie. Par exemple, chez *Manduca sexta*, les descendants exposés à une stimulation immunitaire bénéficient d'une meilleure immunité mais ont une réduction de leur fécondité à l'âge adulte

(Trauer and Hilker 2013). Chez les coléoptères *Tribolium castaneum* et *Tenebrio molitor*, la descendance de mères immunisées contre une infection bactérienne présente une immunité renforcée mais une durée de développement larvaire prolongée (Roth et al. 2010 ; Zanchi et al. 2011 ; Dhinaut et al. 2018). Si les coûts dépassent les avantages du priming immunitaire, il peut ne pas être sélectionné, surtout si le risque de réinfection après une première exposition à un agent pathogène est faible. Les résultats négatifs observés dans certaines études sur le priming immunitaire chez diverses espèces d'invertébrés pourraient être partiellement expliqués par de tels coûts (Milutinović and Kurtz 2016). Cependant, si le priming immunitaire persiste malgré les coûts, cela suggère fortement qu'il est adaptatif.

Si les organismes ont le potentiel d'évoluer le priming immunitaire, sa sélection dépendra alors de l'équilibre entre les bénéfices et les coûts associés, en fonction des caractéristiques de l'histoire de vie des hôtes ou de son écologie. Le priming immunitaire vise à protéger un individu ou sa descendance contre les infections récurrentes, et son évolution est influencée par le risque d'infections ultérieures après un contact initial avec un parasite ou un agent pathogène. Des facteurs clés tels que la socialité, la dispersion et la longévité de l'hôte peuvent jouer un rôle important dans le risque d'infections ultérieures (Best et al. 2013 ; Pigeault et al. 2016). La transmission des maladies dépend souvent des interactions entre les hôtes. Le niveau de grégarité ou de socialité des invertébrés peut donc jouer un rôle important. Les hôtes solitaires sont moins susceptibles d'être réinfectés que les hôtes grégaires ou sociaux, pour lesquels le priming immunitaire offrirait un avantage sélectif significatif (Moret et al. 2018). La dispersion est également censée influencer l'évolution du priming immunitaire car les organismes dispersants peuvent échapper à la réinfection par rapport aux organismes non dispersants (Moret et al. 2018). Enfin, le risque de réinfection par un parasite ou un agent pathogène augmente avec la durée de vie de l'hôte. Contrairement aux organismes à courte durée de vie, les organismes à durée de vie longue bénéficient de l'investissement dans le priming immunitaire, car ils sont plus susceptibles d'être confrontés à une réinfection (Best et al. 2013). Ainsi, la longévité devrait favoriser l'évolution du priming immunitaire.

Cette étude vise à tester cette dernière hypothèse au niveau intraspécifique en utilisant le ténébrion meunier, *Tenebrio molitor*, comme modèle d'étude. *T. molitor* est un insecte ravageur des denrées céréalieres stockées et est, depuis quelques années, élevé en masse comme source alternative de protéines alimentaires (Cortes Ortiz et al. 2016). Le ténébrion meunier est un insecte grégaire, à générations chevauchantes, peu dispersant et présente une durée de vie variant de 4 mois à 2 ans. Il est l'hôte de nombreuses bactéries ou champignons

entomopathogènes (Vigneron et al. 2019). Son système immunitaire est inné et repose sur des effecteurs cellulaires, tels que les hémocytes, qui éliminent les corps étrangers par phagocytose ou encapsulement (Lavigne and Strand 2002), ainsi que sur des effecteurs humoraux, comme les enzymes du système prophénoloxydase (Cerenius et al. 2008). Ces enzymes aident à neutraliser les corps étrangers en les entourant d'une capsule mélanique et en agissant de manière cytotoxique. Lors d'une infection microbienne, une réponse immunitaire est déclenchée, entraînant la production de peptides antimicrobiens plus ou moins spécifiques, dont la durée peut varier (Kim et al. 2008). Un aspect important de l'immunité de *T. molitor* est le priming immunitaire, dont les conséquences immunologiques et les effets sur les paramètres de la valeur sélective ont été caractérisés à la fois au niveau individuel et transgénérationnel (Moret 2006 ; Zanchi et al. 2011, 2012 ; Moreau et al. 2012 ; Dubuffet et al. 2015 ; Dhinaut et al. 2017, 2018). Le priming immunitaire individuel est associé à une activité antibactérienne de l'hémolymphe persistante pendant au moins 20 jours après une stimulation initiale par des bactéries à Gram-positif (Dhinaut et al. 2018). Une telle persistance de l'activité antibactérienne n'est pas observée chez des insectes immunisés avec des bactéries à Gram-négatif. De plus, le priming avec des bactéries à Gram-positif offre une meilleure protection contre les réinfections microbiennes que le priming avec des bactéries à Gram-négatif, ce qui suggère que les bactéries à Gram-positif ont joué un rôle important dans l'évolution du système immunitaire de *T. molitor* (Dhinaut et al. 2018).

Dans cette étude, nous avons utilisé des lignées consanguines de *T. molitor* qui présentent des durées de développement différentes (3 lignées "rapides" et 3 lignées "lentes"). Ces lignées se distinguent également par des durées de vie variées, où les lignées à développement rapide ont une durée de vie courte et les lignées à développement lent ont une durée de vie longue (Crosland, communication personnelle). L'objectif était de comparer ces lignées pour leur investissement au priming individuel. Un groupe d'insectes de chaque lignée consanguine a été suivi pour observer leur croissance individuelle. Ensuite, dix jours après leur émergence, ces insectes ont été soumis à une injection d'une suspension de la bactérie *Bacillus cereus*, qui a été inactivée, afin de stimuler le priming immunitaire. L'investissement au priming immunitaire a été évalué en termes de résistance à une infection ultérieure ou du maintien de l'activité antimicrobienne de l'hémolymphe 10 jours ou 40 jours après la stimulation initiale. Nous nous attendons à ce que davantage d'insectes issus de lignées à développement lents conservent une activité antibactérienne dans leur hémolymphe et soient protégés 40 jours après l'exposition initiale, par rapport aux insectes issus de lignées à développement rapide.

Matériel et méthodes

Origine des insectes et plan expérimental

Tous les insectes de cette étude ont été élevés et maintenus dans les locaux de l'université de Bourgogne à une température de $24 \pm 2^\circ\text{C}$, avec un taux d'humidité relative de 70 %, et dans l'obscurité permanente.

Les spécimens utilisés pour cette étude sont issus de six lignées consanguines de *Tenebrio molitor*, élevées en laboratoire et récemment évaluées pour leurs caractéristiques de vie. En résumé, ces lignées ont été créées à partir d'une même population d'insectes d'origine en réalisant des accouplements entre individus frères et sœurs sur un minimum de six générations. Après le processus d'accouplements pleins frères-sœurs, chaque lignée a été maintenue en panmixie pendant cinq générations supplémentaires. L'objectif était de produire des lignées d'insectes présentant une variance intra-lignée sur les caractéristiques de vie plus faible que la variance entre les lignées. Ainsi, 17 lignées ont été générées et pour cette étude, trois lignées présentant un temps de développement, de la ponte de l'œuf à la nymphose, rapide ont été sélectionnées (Tableau S1 ; lignée 1.7 : $139,6 \pm 2,3$ jours, $n = 64$; lignée 2.6 : $137,6 \pm 2,6$ jours, $n = 60$; lignée 17.6 : $139,5 \pm 2,8$ jours, $n = 62$), ainsi que trois lignées présentant un temps de développement lent (lignée 3.7 : $167,2 \pm 9,4$ jours, $n = 56$; lignée 5.7 : $156,1 \pm 2,2$ jours, $n = 71$; lignée 12.7 : $152,8 \pm 1,9$ jours, $n = 57$). Comme ces lignées présentaient des taux de développement moyens similaires (calculés en divisant la masse de la nymphe par la durée de développement), il est à noter que les adultes des lignées à développement rapide étaient également plus petits que les adultes des lignées à développement lent.

Les insectes utilisés pour cette expérience ont été obtenus en plaçant pour chaque lignée, trois bacs en plastique (L 40 x l 30 x h 11 cm) contenant chacun 30 femelles et 30 mâles vierges âgés de 10 à 15 jours pour une période de reproduction de trois jours dans environ 500 g de farine de son. Ce laps de temps a été choisi comme compromis entre la précision de la date de ponte et la quantité d'œufs produite. Deux mois plus tard, lorsque les larves ont atteint une taille suffisante (environ 1 cm de long), la densité des individus a été ajustée. Dans ce but, six bacs plus petits (L 17 x l 11 x h 9,5 cm) de 140 larves ont été générés pour chaque lignée.

Les larves ont ensuite été suivies deux fois par semaine pour estimer la durée individuelle de développement larvaire (calculée en jours entre la date de nymphose et la date médiane à laquelle les parents se sont reproduits). Chaque nymphe a été pesée à l'aide d'une balance OHAUS DiscoveryDV114C, précision ± 0.1 mg) puis isolée dans un compartiment d'une boîte

à bijoux (boîte à 10 compartiments ; chaque compartiment : L 4,8 x l 3,2 x h 2,2 cm). À l'émergence, chaque adulte a été pesé, sexé et la date d'émergence été notée pour contrôler l'âge adulte des individus pour la suite de l'expérience. Pour toute la durée de l'expérience, les insectes ont été ainsi maintenus isolés avec environ 2 g de farine de son et un petit morceau de pomme d'environ 5 mg une fois par semaine.

Pour des raisons logistiques, l'expérience n'a utilisé que des femelles. Afin de standardiser les comparaisons entre les lignées en termes de temps de développement, les 240 premières femelles émergées par lignée ont été réparties aléatoirement dans les groupes de traitements suivants pour mesurer leur investissement dans le priming immunitaire, estimé soit par un test de survie, soit par la mesure de l'activité antibactérienne de leur hémolymphe (Figure 1). Pour les deux mesures, des femelles âgées de 10 ± 2 jours après l'émergence, assignées au groupe de traitement 'primé', ont été anesthésiées pendant 10 minutes sur de la glace pilée avant de recevoir une injection de 5 μ L de solution saline stérile (tampon phosphate salin : PBS 10 mM, pH 7,5) contenant des cellules inactivées de la bactérie *Bacillus cereus* (10^8 cellules/mL, voir méthode ci-dessous) afin de stimuler le priming immunitaire. Un deuxième groupe de femelles du même âge, constituant un groupe témoin appelé 'PBS', a reçu une injection de 5 μ L de PBS stérile uniquement, après avoir été anesthésiées pendant 10 minutes sur de la glace, comme procédure de contrôle pour l'effet de l'injection. Toutes les injections ont été réalisées à travers la membrane pleurale située entre le 2^{ème} et le 3^{ème} tergite abdominal à l'aide d'un capillaire en verre stérile étiré en une pointe fine (voir méthode ci-dessous). Un troisième groupe témoin de femelles, appelé 'Contrôle', a simplement subi une période d'anesthésie de 10 minutes sur de la glace, mais sans être injecté, afin de contrôler tout effet éventuel de la blessure causée par l'injection. Pour chacun de ces groupes de traitements, des femelles ont été évaluées pour leur survie lors d'une infection standard par blessure septique avec la bactérie *B. cereus* vivante (voir ci-dessous pour le protocole) à 10 ± 2 jours ou 40 ± 2 jours après le traitement stimulant le priming immunitaire. Ainsi, environ 30 femelles ont été évaluées par modalité de traitement (primé, PBS et Contrôle), d'âge post-traitement (10 jours et 40 jours post-traitement) et par lignée (6 lignées) pour évaluer leur résistance à l'infection (Tableau S1). La survie des insectes infectés a été suivie pendant les 15 jours qui ont suivi l'infection. Les insectes ayant survécu à la période de suivi ont ensuite été sacrifiés et leur taille estimée par la mesure de la longueur des élytres (voir méthode ci-dessous).

De la même manière, pour chacun des groupes de traitements mentionnés ci-dessus, des femelles ont été évaluées pour l'activité antibactérienne de leur hémolymphe à 10 jours ou 40

jours après le traitement stimulant le priming immunitaire. Pour cette mesure (voir ci-dessous pour la méthode), environ 20 femelles par modalité de traitement, d'âge post-traitement et par lignée ont été utilisées (Tableau S2). Après le prélèvement de leur hémolymphe, chaque individu a été replacé dans sa boîte et suivi pour sa longévité. Une fois mort, la taille des individus a pu être estimée par la mesure de leurs élytres (voir méthode ci-dessous).

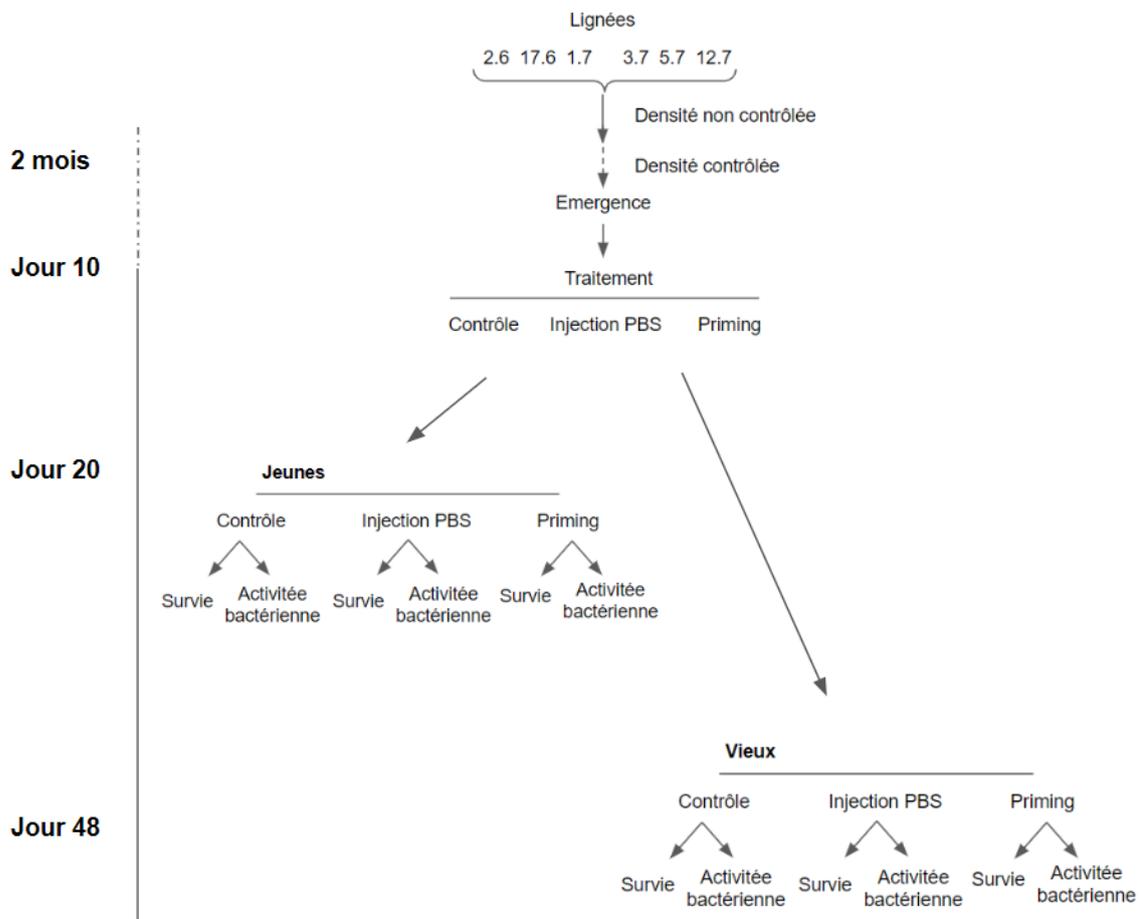


Figure 1 : Plan expérimental présentant l'échelle de temps, les différentes lignées, et les traitements appliqués.

Culture de *Bacillus Cereus*, priming et test de survie

Bacillus cereus est une bactérie Gram-positif entomopathogène à laquelle *T.molitor* est naturellement exposé. La souche de *B. cereus* utilisée dans cette expérience pour stimuler le priming et réaliser les infections provient de la collection de l'institut Pasteur (CIP69.12) et possède un gène de résistance à la tétracycline.

La bactérie a été cultivée dans du milieu Broth liquide (10 g de bacto-tryptone, 5 g d'extrait de levure, 10 g de NaCl dans 1 000 ml d'eau distillée, pH 7) pendant 24 heures à 28°C dans un incubateur orbital (agitation : de 1000 tours par minute). Le milieu de culture contenait une concentration de 5µg/mL de tétracycline, afin de permettre la culture exclusive de cette bactérie. Les bactéries utilisées pour la stimulation du priming immunitaire ont été inactivées dans du formaldéhyde à 0,5% préparé dans du PBS pendant 30 minutes, puis centrifugées (3 500 g à 4°C pendant 30 minutes) et rincées trois fois dans du PBS avant d'ajuster la concentration à 10⁸ bactéries/ml à l'aide d'une cellule de comptage Neubauer Improved. Le succès de l'inactivation a été testé en plaçant un échantillon de la solution bactérienne sur une gélose stérile (milieu Broth avec 1% d'agar masse en gramme/volume en mL), puis incubé à 28°C pendant 24 heures. Des aliquots de la suspension ont été conservés à -20°C jusqu'à utilisation. La stimulation du priming immunitaire a été réalisée par injection à travers la membrane pleurale entre le deuxième et le troisième tergite abdominal à l'aide de capillaires en verre stériles qui ont été étirés pour obtenir une pointe fine à l'aide d'une étireuse de capillaires (Narashige PC-10). Pour l'infection, les cultures bactériennes de 24 heures (20 ml) ont été centrifugées à 3 500 g à 4°C pendant 30 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot bactérien a été utilisé pour l'infection en trempant l'aiguille d'une seringue à insuline plongée dans le culot bactérien, puis en piquant l'insecte, après anesthésie de 10 min sur de la glace, à travers la membrane pleurale entre le deuxième et le troisième tergite abdominal. Immédiatement après l'infection, l'insecte a été replacé dans sa boîte puis sa survie suivie chaque jour pendant 15 jours.

Collecte d'hémolymphe et mesure de l'activité antibactérienne

Pour cette mesure, les insectes ont été anesthésiés sur de la glace pendant 10 minutes avant de pouvoir prélever 3 µL d'hémolymphe à l'aide d'un microcapillaire en verre gradué (Hirschmann, Rincaps®) à partir d'une blessure réalisée entre le thorax et l'abdomen à l'aide de l'aiguille d'une seringue à insuline. Ensuite, l'hémolymphe a été mélangée à 20 µL de PBS froid dans un tube à centrifugation traité avec du N-phénylthiourée (PTU : P7629 ; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA), puis immédiatement plongé dans l'azote liquide et conservé à -80°C jusqu'à une analyse ultérieure de l'activité antibactérienne. Le PTU est utilisé pour inhiber le processus de mélanisation de l'échantillon qui pourrait affecter la mesure de l'activité antibactérienne.

L'activité antibactérienne de l'hémolymphe a été mesurée par une méthode standard d'inhibition de zone (Moret 2006). Les échantillons d'hémolymphe ont été décongelés sur de la glace, et 2 μ L de la solution d'échantillon ont été utilisés pour mesurer l'activité antimicrobienne dans des boîtes de Petri contenant une gélose ensemencée avec la bactérie *Arthrobacter globiformis* provenant de la collection de l'Institut Pasteur (CIP105365). Une culture de la bactérie en croissance pendant 24 heures a été ajoutée à du milieu Broth contenant 1% d'agar pour atteindre une concentration finale de 10^5 bactéries par millilitre. Dix mL de ce milieu ensemencé ont ensuite été versés dans une boîte de Petri dans laquelle a été préalablement placé un système d'emporte-pièces et laissés à solidifier. Le système d'emporte-pièces permet de former, une fois délicatement retiré du milieu solidifié, un ensemble de 14 puits d'environ 2mm de diamètre dans lesquels les 2 μ L échantillons d'hémolymphe sont déposés. Pour chaque boîte de Petri, deux puits étaient réservés aux dépôts de 2 μ L d'une solution de tétracycline (T3383 ; 2,5 mg/ml dans de l'éthanol absolu ; Tétracycline : Sigma-Aldrich) et 2 μ L de PBS stérile en tant que témoins respectifs d'activité antibactérienne positive et négative. Les boîtes de Petri ont été ensuite incubées à 28°C pendant 48 heures. Le diamètre moyen des zones d'inhibition de croissance bactérienne a été ensuite mesuré pour chaque échantillon à l'aide du logiciel ImageJ. Étant donné qu'il y avait une légère variation entre les boîtes de Petri pour les zones d'inhibition résultant de l'ajout de tétracycline, le diamètre de la zone d'inhibition de chaque échantillon a été ajustée pour tenir compte de cette variation entre les boîtes. Pour ce faire, la boîte de Petri dans laquelle la zone d'inhibition résultant du témoin positif à la tétracycline était la plus grande a été utilisée comme référence. Ensuite, pour chaque échantillon, la zone d'inhibition a été multipliée par le rapport entre la zone d'inhibition due à la tétracycline dans la boîte de Petri de référence et celle due à la tétracycline dans la boîte de Petri dans laquelle l'échantillon a été mesuré.

Estimation de la taille des insectes par la mesure de leurs élytres

Après leur mort, les individus ont été placés dans des tubes étiquetés. Les élytres ont été mesurés à l'aide d'un microscope stéréo Nikon SM2 1500 WH et du logiciel NIS élément (v.4.00.03). Les mesures ont été effectuées par la même personne, dont la précision a été vérifiée. Pour l'analyse statistique, la moyenne entre les deux élytres a été utilisée.

Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées sur RStudio (version 4.1.2). Des statistiques descriptives ont été réalisées pour vérifier les résultats antérieurs. Le temps de développement des lignées a été analysé à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur, en utilisant un échantillon de n=1450 femelles répartie sur 6 lignées différentes. Les lignées ont ensuite été comparées par paire avec un test de Tukey.

La longévité des lignées a été testée à l'aide d'un modèle de Cox. Cependant, seules les femelles ayant participé à l'expérience sur l'activité antimicrobienne ont été prises en compte pour cette analyse (n=551), car les individus destinés au test de survie subissaient une infection, affectant leur survie.

Notre problématique de recherche est centrée sur le maintien du priming et la survie des individus, en fonction du temps de développement et de l'âge des individus.

Concernant l'expérience de survie, nous avons d'abord évalué l'effet du traitement sur la survie des individus à l'aide d'un modèle de Cox (n=870). Ensuite, nous avons utilisé un modèle de Cox prenant en compte la vitesse de développement quantitative des individus, l'âge de mesure, le traitement administré, la masse à l'injection, ainsi que les interactions, avec un effet aléatoire sur les lignées (n=870), pour prendre en compte l'effet de leur génétique.

Un autre modèle a été conçu pour évaluer la survie des individus jeunes, intégrant la vitesse de développement des lignées, le traitement, la masse, ainsi que les interactions doubles et triples, le tout avec un effet aléatoire sur les lignées (n=432). De même, un modèle similaire a été utilisé pour évaluer la survie des individus plus âgés, en prenant en compte les mêmes facteurs (n=438).

Concernant l'expérience d'activité antibactérienne, nous avons d'abord évalué l'effet du traitement sur la présence de cercles d'inhibition en utilisant un test de Chi² (n=504). Ensuite, nous avons utilisé un modèle linéaire généralisé avec une distribution binomiale avec fonction de lien logit pour analyser la présence de cercles d'inhibition en fonction de l'âge de mesure, du temps de développement et de la lignée en tant que facteur aléatoire (n=504). Enfin, nous avons utilisé un modèle mixte linéaire pour analyser le diamètre des cercles d'inhibition en fonction de l'âge de mesure, du temps de développement et de la lignée en tant que facteur aléatoire (n=182).

Afin de sélectionner le modèle le plus parcimonieux et le plus adapté, nous avons utilisé un algorithme codé par Agathe Crosland. Cet algorithme calcule l'AIC (Critère d'Information d'Akaike) pour tous les modèles classés par ordre croissant, puis sélectionne le modèle ayant le score AIC le plus bas et le plus parcimonieux comme étant le plus approprié. De plus, l'algorithme fournit le delta de l'AIC pour chaque modèle, notant que les modèles ayant une différence de delta AIC inférieure à 2 peuvent être considérés comme étant similaires en termes de qualité d'ajustement. Ces étapes de sélection rigoureuses nous permettent d'obtenir des résultats fiables et significatifs pour notre étude.

Étant donné la longueur de l'expérience et la durée nécessairement limitée du stage, je n'ai pas effectué toutes les manipulations. Ma contribution a été de participer au suivi de l'élevage, la mesure d'activité antibactérienne, de mesurer la taille des insectes, d'analyser les résultats.

Résultats

Caractérisation des lignées

Temps de développement des lignées

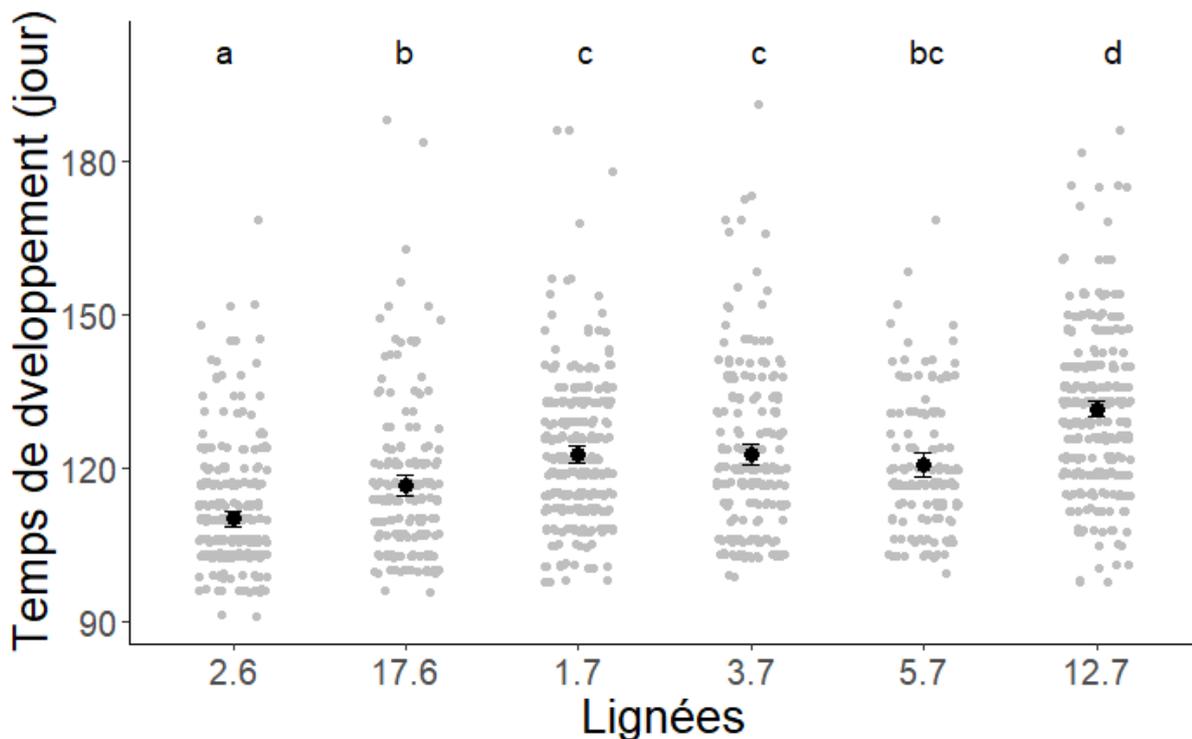


Figure 2 : Temps de développement en jours selon les lignées, avec la représentation des individus (point gris) et de la moyenne (point noir). Les barres d'erreur correspondent à un intervalle de confiance

à 95%. Les lignées présumées rapides sont : 2.6, 17.6, 1.7, tandis que les lignées présumées lentes sont: 3.7, 5.7, 12.7. Les lettres situées au sommet de chaque catégorie indiquent les groupes de ressemblance, mettant en évidence les différences significatives entre les lignées.

Les résultats de l'ANOVA révèlent des différences significatives en termes de temps de développement entre les différentes lignées étudiées ($F=77,94$, $ddl= 5$, $p < 0.001$). Le test de comparaisons multiples a posteriori montre clairement que les lignées a priori rapides (lignées 2.6, 17.6 et 1.7) présentent des temps de développement relativement plus courts que les lignées a priori lentes (3.7, 5.7 et 12.7) (Figure 2). Cependant, bien que la lignée 2.6 et la lignée 12.7 se montrent significativement plus rapides et plus lente, respectivement, que les autres, ces dernières présentent des temps de développement qui se différencient faiblement (Figure 2).

Par conséquent, pour la suite des résultats, nous utiliserons le temps de développement en tant que variable quantitative en tenant compte de l'effet des lignées comme facteur aléatoire.

Survie des lignées

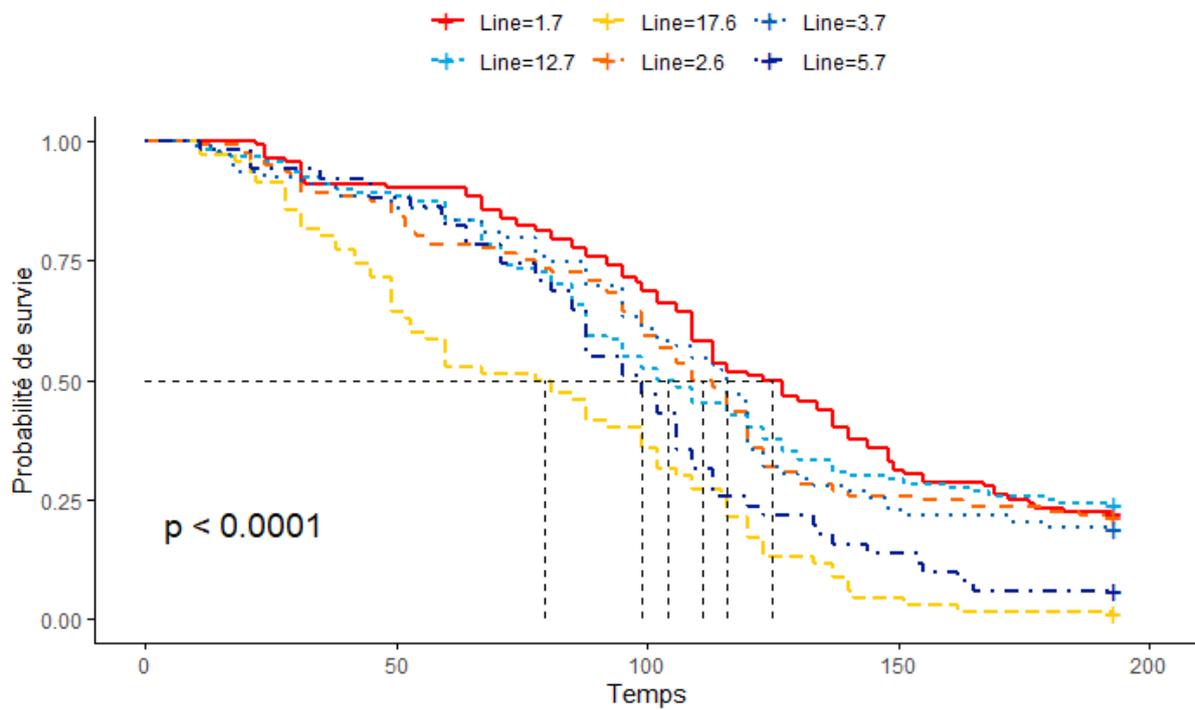


Figure.3 : Longévité des individus appartenant aux lignées a priori rapides (en nuance de rouge) et aux lignées a priori lentes (en nuance de bleu) en fonction du temps en jours. Données obtenues à partir des insectes utilisés pour l'analyse de l'activité antibactérienne de leur hémolymphe.

Tableau 1 : Tableau de comparaison par paire de la survie des lignées

Lignées	2.6	17.6	1.7	3.7	5.7
2.6	-				
17.6	$\chi^2 = 21.85$, ddl = 1, p < 0.001	-			
1.7	$\chi^2 = 1.28$, ddl = 1, p = 0.25	$\chi^2 = 40.10$, ddl = 1, p < 0.001***	-		
3.7	$\chi^2 = 0.01$, ddl = 1, p = 0.91	$\chi^2 = 19.23$, ddl = 1, p < 0.001***	$\chi^2 = 1.44$, ddl = 1, p = 0.29	-	
5.7	$\chi^2 = 6.22$, ddl = 1, p = 0.01*	$\chi^2 = 4.16$, ddl = 1, p = 0.04*	$\chi^2 = 13.91$, ddl = 1, p < 0.001***	$\chi^2 = 5.48$, ddl = 1, p < 0.01**	-
12.7	$\chi^2 = 0.002$, ddl = 1, p = 0.87	$\chi^2 = 23.62$, ddl = 1, p < 0.001***	$\chi^2 = 0.70$, ddl = 1, p = 0.38	$\chi^2 = 0.06$, ddl = 1, p = 0.79	$\chi^2 = 19.23$, ddl = 1, p < 0.01**

*p < .05, ** p < .01, *** p < .001

Les résultats de l'analyse du modèle de Cox révèlent des différences de survie significatives selon les lignées ($\chi^2 = 47.4$, ddl = 5, p < 0.001).

Seule la lignée 17.6, dite rapide, présente une longévité plus faible que les autres (Figure 3 et Tab.1). La lignée 5.7, dite lente, présente également une moins bonne survie que la plupart des autres mais a une meilleure survie que 17.6 (Figure 3 et Tab.1).

Expérience testant l'influence du développement et de la durée de vie sur l'investissement au priming immunitaire estimé en termes de survie à une infection ultérieure

Effet du traitement

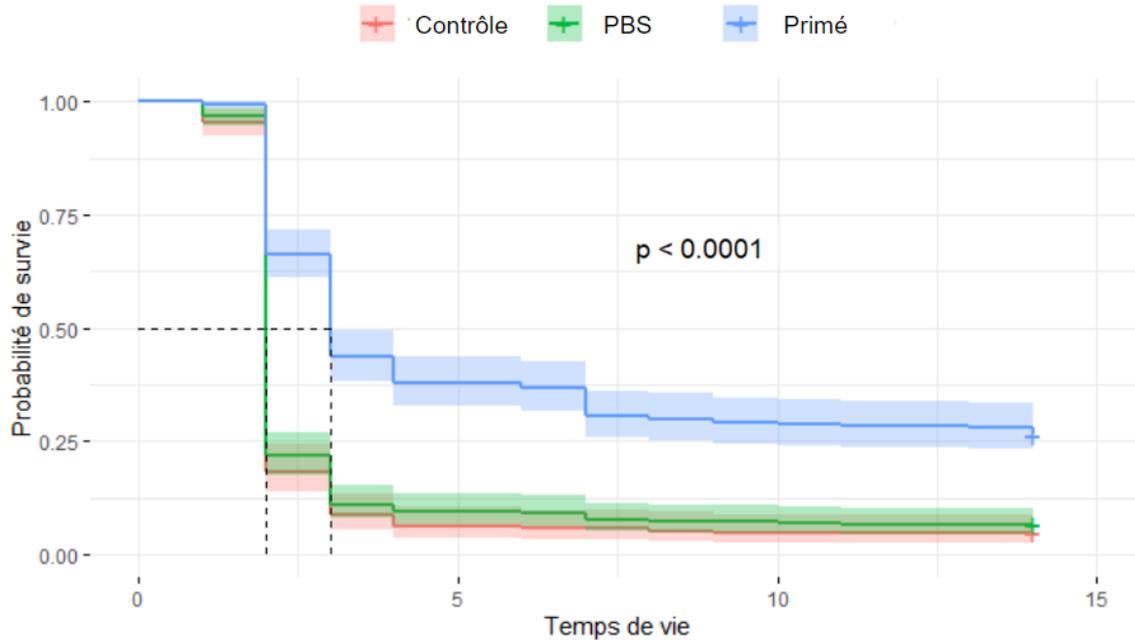


Figure.4 : Probabilités de survie durant les 15 jours qui ont suivi l'infection avec *Bacillus cereus* parmi les groupes d'insectes préalablement primés par injection de *B. cereus* inactivé et les 2 groupes témoins : injectés de PBS et les insectes non injectés.

Tableau 2 : Tableau de comparaison par paire de la survie des individus selon le traitement

	Contrôle	PBS
PBS	p = 0.61	-
Primé	p < 0.001***	p < 0.001***

Une première analyse, utilisant un test de χ^2 sur la contingence de mortalité après infection des groupes d'insectes en fonction des modalités de traitement pour stimuler le priming immunitaire (Primé, PBS et Contrôle) a été réalisée afin de vérifier, notamment, que les 2 modalités témoins du traitement ne diffèrent pas. Les résultats du test du χ^2 et la Figure.4 montrent une absence de différences significatives entre l'injection au PBS et les contrôles mais tous deux sont significativement différents du priming ($\chi^2 = 139$, ddl = 2, p < 0.001, Tab.2). Au vu des résultats précédents, il a été décidé de supprimer le groupe témoin Contrôle car le groupe injecté avec du PBS, ayant subi une blessure, est plus comparable au groupe exposé à *Bacillus cereus*. Ainsi seuls les groupes Primés et PBS ont été utilisés dans la suite de nos analyses.

Analyse de l'investissement au priming en termes de survie à une infection ultérieure

Tableau 3 : Modèles de régression de Cox pour analyser la survie à l'injection par *Bacillus cereus* des insectes en fonction de leur traitement 'Priming' (primés versus témoins-PBS), de la durée de développement larvaire ('Développement'), de l'Age auquel a eu lieu l'infection (Jeunes : 20 jours post émergence versus Vieux : 48 jours post émergence) et de la lignée d'appartenance en facteur aléatoire. Suite au modèle comprenant l'ensemble des données (A), deux autres analyses se limitant aux données concernant les insectes infectés jeunes (B) et les insectes infectés vieux (C) uniquement ont été réalisées afin de pouvoir interpréter l'interaction statistique significative entre Priming et l'âge de l'infection.

Variabiles	b ^a	s.e ^b	Wald ^c	ddl	p ^d	Odds ^e
A. Infectés jeunes et vieux						
Priming (primés vs PBS)	-1.20	0.13	104.06	1	< 0.001	0.29
Age (jeunes vs vieux)	-0.05	0.12	3.20	1	0.07	0.94
Développement	-0.009	0.003	6.40	1	0.01	0.99
Priming *Age	0.46	0.18	6.69	1	0.009	1.59
B. Infectés jeunes uniquement						
Priming (primés vs PBS)	-1.20	0.13	77.60	1	< 0.001	0.29
Développement	-0.01	0.004	8.90	1	0.002	0.98
C. Infectés vieux uniquement						
Priming (primés vs PBS)	-0.75	0.12	34.72	1	< 0.001	0.46

^ab = coefficient de régression de la survie globale en fonction des variables

^bErreur standard du coefficient de régression

^cWald statistique des variables

^dniveau de significativité pour la statistique de Wald. Valeurs $p < 0.005$ sont données en gras

^eodds ratio des survie pour la variable en fonction du contrôle ($=\exp(b)$).

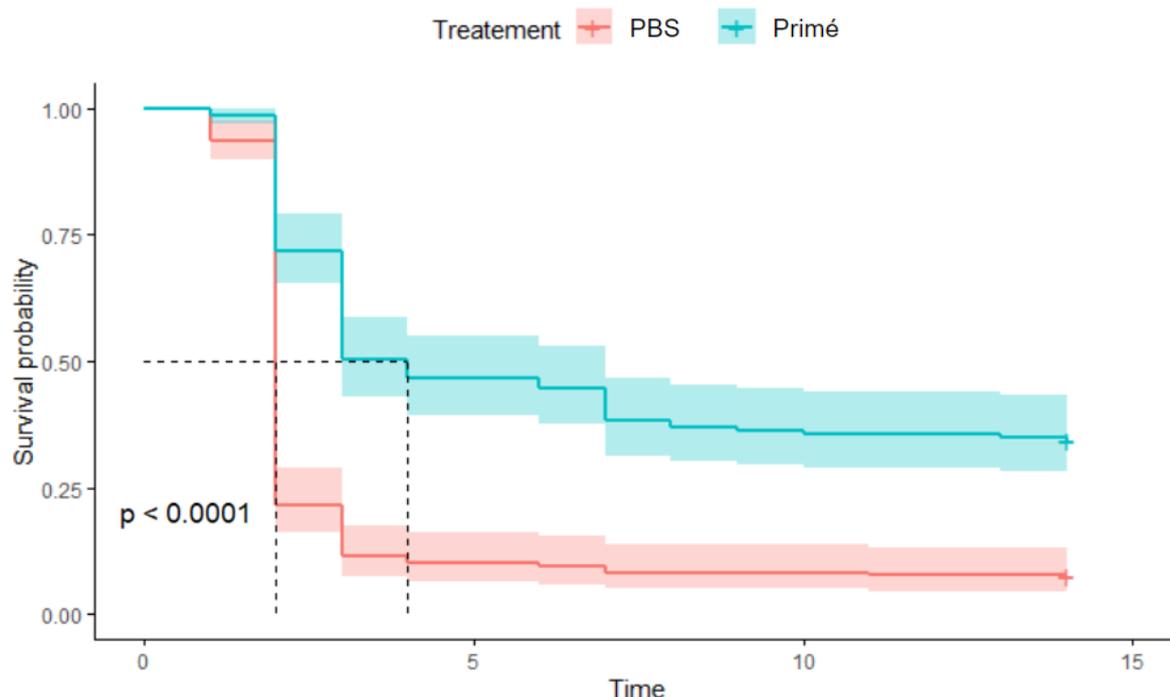


Figure.5 : Probabilités de survie durant les 15 jours qui ont suivi l'infection avec *Bacillus cereus* parmi les groupes d'insectes préalablement primés par injection de *B. cereus* inactivé (Priming) et le groupe témoin PBS (injection) infectés 'jeunes', c'est à dire à l'âge de 20 jours post émergence.

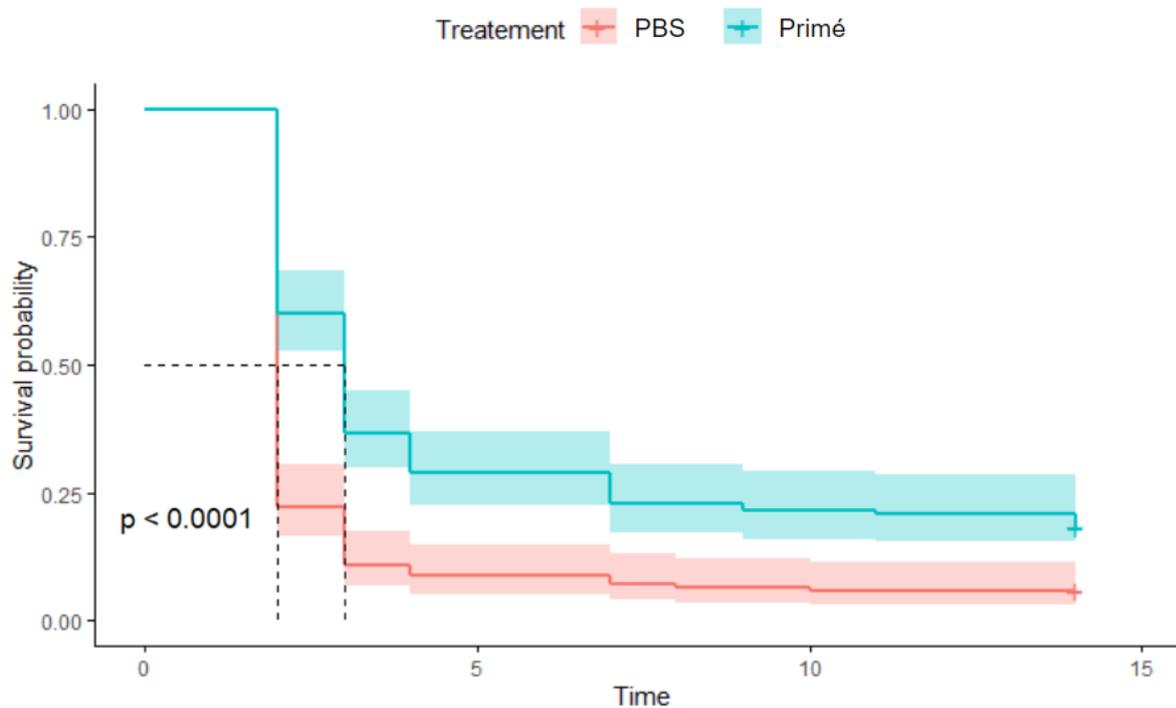


Figure.6 : Probabilités de survie durant les 15 jours qui ont suivi l'infection avec *Bacillus cereus* parmi les groupes d'insectes préalablement primés par injection de *B. cereus* inactivé (Priming) et le groupe témoin PBS (injection) infectés 'vieux', c'est à dire à l'âge de 48 jours post émergence.

Comme attendu, les résultats montrent un bénéfice significatif du priming immunitaire lors d'une infection ultérieure des insectes avec la bactérie *B. cereus* (Tableau 3A, Figures 5 et 6), avec un gain global de survie à l'infection de 71% par rapport aux insectes témoins (Tableau 3A, Odds ratio). Cependant, l'interaction significative entre le priming et l'âge de l'infection (Tableau 3) montre que le bénéfice du priming est moins fort chez les individus âgés (Tableau 3B et C, Figures 5 et 6).

La vitesse de développement influence significativement la survie (Tableau 3A). L'odd ratio de survie de 0.99 indique que les insectes qui ont une durée de développement plus longue bénéficient d'un léger effet protecteur (gain global d'une probabilité de survie de 1% par jour de développement supplémentaire) par rapport aux insectes qui se développent plus rapidement.

Aucune interaction entre le temps de développement larvaire et l'âge de l'infection n'a été mise en évidence (Tableau 3A, cette interaction n'a pas été retenue par la sélection de modèle).

Analyse de l'investissement au priming immunitaire en termes de maintien d'activité antibactérienne de l'hémolymph

Effet du traitement

Un test du χ^2 a été réalisé pour évaluer l'association entre le traitement et la présence de cercle d'inhibition et montre une différence significative parmi les 3 modalités ($\chi^2 = 152,2$, ddl = 2, $p < 0.001$). Les comparaisons multiples des groupes ne montrent aucune différence significative entre les 2 groupes témoins (Tableau 4, Contrôle versus PBS : $\chi^2 = 1,55$; ddl = 1, $p = 0.213$). Par contre, les insectes primés montrent une prévalence d'activité antibactérienne dans leur hémolymph largement plus élevée que les insectes du groupe PBS ($\chi^2 = 109,79$; ddl = 1, $p < 0.001$). Ainsi, comme pour les analyses de survies, seules les groupes PBS et primés ont été utilisés pour les analyses suivantes.

Tableau 4 : Tableau de contingence sur la présence ou l'absence de cercle d'inhibition en fonction du traitement de priming.

	Contrôle	Injection de PBS	Priming
Absence de cercle	129	170	79
Présence de cercle	13	10	103

Présence des cercles d'inhibition

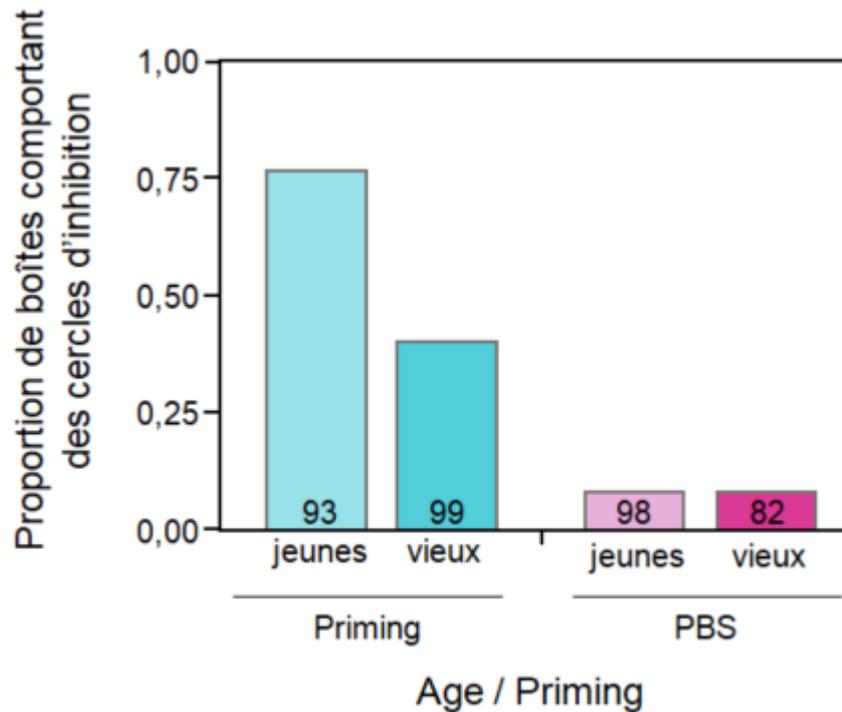


Figure 7 : Proportion de cercles d'inhibition dans les boîtes de Petri contenant l'hémolymphe d'animaux jeunes ou âgés, ayant été primé par des *Bacillus cereus* inactivées, ou ayant été infectées de PBS. Les nombres dans les barres indiquent la taille de l'échantillon.

Nous avons employé un modèle linéaire généralisé avec une distribution binomiale pour analyser la présence de cercle d'inhibition en relation avec l'âge de mesure, le temps de développement, le traitement et la lignée, considérée comme un facteur aléatoire. Les résultats mettent en évidence une association significative entre l'âge de mesure et la présence d'activité antibactérienne dans l'hémolymphe (Figure 7, $\chi^2 = 17.08$, ddl = 1, $p < 0.001$). Une augmentation de l'âge est corrélée à une réduction de la présence des cercles. De même, le traitement démontre une association significative avec la présence de cercles (Figure 7, $\chi^2 = 72.17$, ddl = 1, $p < 0.001$). Il y a plus de cercles chez les individus primés. L'interaction entre l'âge de mesure et le traitement se révèlent également significatives (Figure 7, $\chi^2 = 5.64$, ddl = 1, $p < 0.001$). Les individus primés montrent une plus grande activité antibactérienne surtout chez les jeunes.

Diamètres des cercles d'inhibition

Nous avons utilisé un modèle mixte linéaire pour analyser le diamètre des cercles d'inhibitions en fonction de l'âge de mesure, du temps de développement, du traitement et de la lignée en facteur aléatoire. Les résultats montrent une association significative entre l'âge de la mesure et la présence d'activité antibactérienne (Figure.8, $\chi^2 = 30,04$, ddl = 1, $p < 0.001$). Une augmentation de l'âge de mesure est associée à une diminution de la taille des cercles. De même que le traitement (Figure 8, $\chi^2 = 172.78$, ddl = 1, $p < 0.001$). Il y a plus de cercles chez les individus primés. Et l'interaction entre l'âge de mesure et le traitement se révèlent également significatives (Figure 8, $\chi^2 = 30.05$, ddl = 1, $p < 0.001$). Les individus primés présentent des cercles plus grands surtout chez les jeunes.

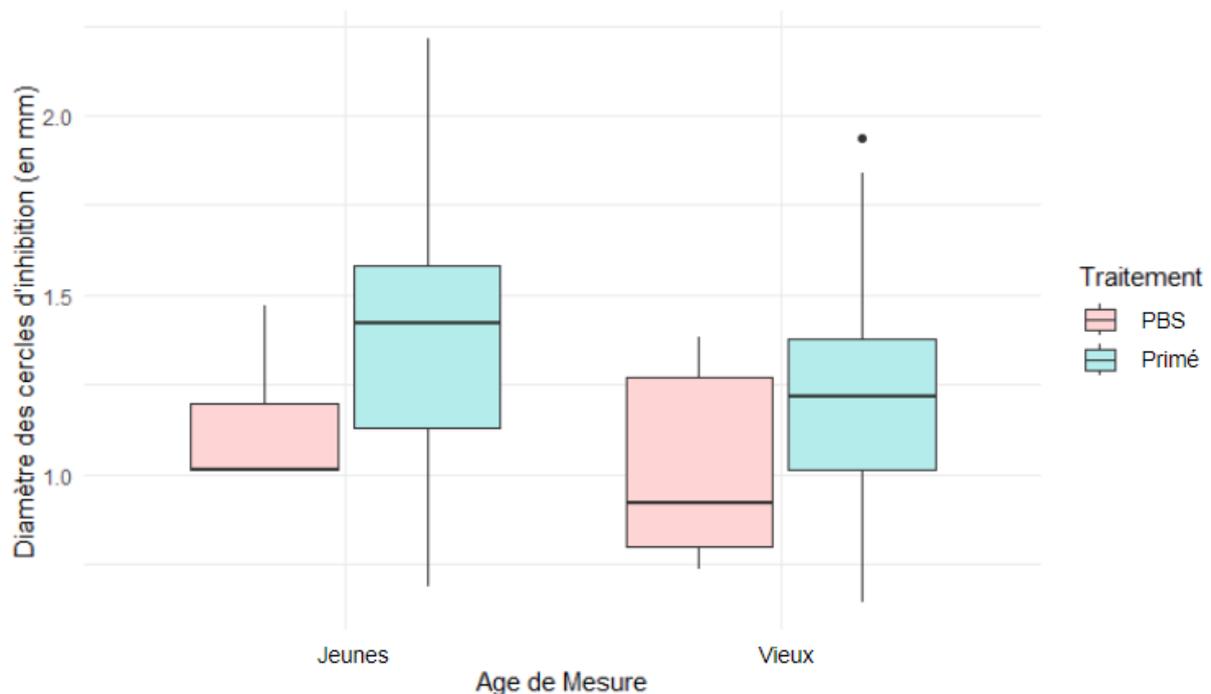


Figure 8 : Comparaison des diamètres des cercles d'inhibition, avec la médiane représentée par une barre noire, les outliers par des points noirs, le premier et le troisième quartile par les bords inférieur et supérieur de la boîte, et les valeurs minimales et maximales par des lignes verticales noires.

Discussion

Dans cette étude, notre objectif principal était d'explorer la persistance du phénomène de priming immunitaire chez le *Tenebrio molitor*. Pour cela, nous avons entrepris une analyse de la survie et de l'activité bactérienne au sein de cette espèce avec des lignées ayant des temps de

développement et des survies variés. Les individus issus de ces lignées étaient primés au début de leur vie d'adulte puis confrontés à une infection soit peu de temps soit plus longtemps après ce priming. Notre hypothèse principale était que le priming devrait être maintenu moins longtemps chez les individus ayant atteint rapidement l'âge adulte et/ou vivant le moins longtemps.

Initialement, nos hypothèses étaient basées sur les résultats des études antérieures menées par Agathe Crossland, qui nous ont permis de classer les lignées en deux catégories distinctes : celles à développement lent et celles à développement rapide. Cependant, l'analyse du rythme de développement a révélé non pas les deux groupes attendus, mais plutôt une gradation continue entre les lignées. Cette observation a également eu un impact sur leur survie, mettant en évidence l'absence de groupes distincts et un continuum entre les différentes lignées. De plus, nous avons remarqué que toutes les lignées présentaient une phase nymphale plus courte que lors de l'expérience précédente. Cette constatation pourrait s'expliquer par une période de stress provoquée par une attaque de rats survenue dans nos élevages entre octobre et décembre, alors que les individus étaient encore à l'état larvaire. Ce stress semble avoir entraîné un développement accéléré des individus, ce phénomène ayant été précédemment décrit (Margraf et al. 2003).

Au cours de nos deux expérimentations, nous avons utilisé trois groupes de traitement distincts. Le premier groupe était constitué d'individus témoins qui n'ont pas reçu de traitement. Le deuxième groupe était composé d'individus ayant subi une blessure due à l'injection de PBS, tandis que le troisième groupe était constitué d'individus ayant subi une blessure résultant de l'injection de la bactérie. Comme attendu (González-Acosta et al. 2022), les résultats ont démontré que le priming s'est avéré efficace pour renforcer la résistance à l'infection chez les individus, contrairement aux groupes témoins et à ceux ayant reçu le traitement PBS.

Les individus ayant bénéficié du priming immunitaire ont manifesté une amélioration de leur survie lors d'un défi immunitaire. Le priming a renforcé leur système immunitaire, conférant ainsi une réponse de défense plus prompte et plus efficace en cas d'infection potentiellement mortelle (Moret and Siva-Jothy 2003 ; Borges et al. 2014). Cet effet bénéfique sur la survie s'est révélé particulièrement marqué chez les spécimens jeunes. Cette résistance découle d'une réponse immunitaire soutenue par le priming, entraînant une augmentation durable de l'activité des effecteurs immunitaires après une première infection ou primo-infection. Par conséquent, *T. molitor* a acquis une protection immunitaire à long terme, caractérisée par une production accrue de peptides antibactériens pendant plus de 10 jours après une infection bactérienne

initiale (Dhinaut et al. 2018). Bien que cette réponse ne soit pas parfaitement analogue à la mémoire immunitaire des vertébrés, elle se traduit néanmoins par une protection renforcée, plus rapide et plus robuste lors d'une seconde infection (Moret et al. 2018).

En outre, nos observations ont mis en évidence une variation de la survie en fonction de l'âge au moment de l'infection, les spécimens jeunes manifestant une meilleure survie que leurs homologues plus âgés. Cette disparité pourrait être attribuée aux coûts associés au maintien du priming après une période prolongée sans réinfection, ce qui rend les spécimens plus âgés moins enclins à conserver ce phénomène et donc plus vulnérables aux infections (Milutinović and Kurtz 2016). Cependant, déterminer le coût du priming immunitaire à l'échelle individuelle demeure complexe et aucune preuve concluante n'a encore été fournie à cet égard. En effet, distinguer les coûts liés au priming immunitaire de ceux d'une simple réponse immunitaire s'avère pratiquement impossible. Néanmoins, il est plausible que de tels coûts soient substantiels lorsque la probabilité de réinfection est faible (Milutinović and Kurtz 2016). Par ailleurs, en conditions naturelles, la variation spatiale de l'expression du priming immunitaire pourrait également être influencée par la pression sélective exercée par les agents pathogènes locaux. Dans les situations où les hôtes demeurent dans une région spécifique et sont susceptibles d'être exposés à plusieurs reprises aux mêmes agents pathogènes, il serait avantageux d'avoir une mémoire immunitaire innée spécifique si les réponses immunitaires secondaires se révèlent plus efficaces et moins coûteuses que la réponse primaire (Moret et al. 2018). De plus, les insectes sont soumis à la sénescence immunitaire, qui réduit leur compétence immunitaire avec le temps (Zerofsky et al. 2005).

Une autre observation intéressante concerne la survie des individus en relation avec leur temps de développement. Les spécimens ayant un développement plus lent ont manifesté une légère amélioration de leur survie, ce qui avait précédemment été documenté dans un autre contexte expérimental (Dhinaut et al. 2017). Cette constatation suggère que le temps de développement pourrait jouer un rôle dans la résistance aux infections. Cependant, la question précise de l'influence du temps de développement sur le système immunitaire et le phénomène de priming chez le *T. molitor* ou les insectes en général n'a pas encore été abordée dans les publications scientifiques. À titre de comparaison, chez les oiseaux un temps de développement prolongé ne semble pas améliorer la compétence immunitaire (Palacios and Martin 2005).

Dans aucun de nos modèles, le poids des individus n'a influencé le maintien du priming. Peu d'informations sont disponibles sur l'impact de la taille et du poids sur le priming immunitaire chez *T. molitor*. Cependant, des études ont démontré qu'il existe une corrélation positive entre

la taille corporelle, la défense immunitaire innée et l'aspect foncé de la cuticule chez les femelles exposées aux températures les plus basses (Prokkola et al. 2013). De plus, des recherches suggèrent que la réponse immunitaire a un effet positif sur la longévité au début de la vie, mais devient moins bénéfique avec le temps (DeVeale et al. 2004). Aucune étude n'a encore démontré si la réciproque était vraie.

Outre les analyses de la survie, qui constitue le pan fonctionnel et adaptatif de l'immunité, nous nous sommes également intéressés à une mesure physiologique d'une des composantes de l'immunité de *T. molitor*, l'activité antibactérienne. Ainsi, notre étude a également mis en évidence une corrélation entre la présence de cercles d'inhibition, indicatifs de l'activité bactérienne, et le traitement, les individus primés présentaient une activité bactérienne plus accrue que les individus injectés au PBS. De même que l'âge au moment du prélèvement de l'hémolymphe. Il est apparu que les spécimens jeunes présentent une activité bactérienne plus marquée par rapport aux spécimens plus âgés. Enfin, l'interaction de ses deux variables s'est avérée aussi significative, les individus primés présente une proportion plus élevée d'activités antibactérienne surtout lorsqu'ils sont jeunes. Cette disparité dans l'activité bactérienne entre les deux groupes pourrait s'expliquer par le maintien du phénomène de priming, qui représente un processus énergétiquement coûteux. Avec le vieillissement et en l'absence de réinfection, les spécimens plus âgés semblent perdre la capacité de maintenir efficacement le priming, ce qui pourrait réduire l'efficacité de leur réponse immunitaire. (Milutinović and Kurtz 2016).

De plus, nous avons observé que le diamètre des cercles d'inhibition diminue avec l'âge. Cette réduction suggère que chez les spécimens plus âgés, l'effet inhibiteur sur les bactéries, représentée par la taille des cercles d'inhibition, est moins prononcé. Ce phénomène pourrait être attribué à une efficacité réduite du maintien du priming chez les spécimens plus âgés, altérant ainsi leur capacité à contrôler l'activité bactérienne (Milutinović and Kurtz 2016). En effet, le vieillissement des individus s'accompagne d'altérations des réponses immunitaires dues au remodelage du système immunitaire (Bartlett and Duggal 2020).

Par contre, nous avons constaté que le temps de développement n'a pas d'influence sur l'immunocompétence des individus.

Notre étude sur la persistance du priming immunitaire chez le *T. molitor* a révélé des résultats significatifs. Les individus ayant bénéficié du priming immunitaire ont montré une meilleure survie face aux infections, en particulier parmi les jeunes adultes. Cette amélioration de la survie découle d'une réponse immunitaire renforcée et soutenue, prolongeant l'activité des effecteurs

immunitaires après une primo-infection bactérienne. Cependant, cette réponse pourrait également entraîner des coûts substantiels pour les individus. Par ailleurs, le rôle du temps de développement et de l'âge dans la survie face aux infections a été mis en évidence, avec les spécimens à développement plus lent présentant une meilleure résistance. Cependant, nos résultats auraient pu être plus probants si la distinction entre les lignées lentes et rapides avait été plus marquée et surtout si cette distinction avait concerné la réponse chez les adultes plus vieux.

Conclusions

Dans cette étude, nous avons exploré les variations dans les durées de développement et de vie au sein de lignées consanguines de *T. molitor*. Nous avons sélectionné trois lignées à développement rapide et trois à développement lent, ces dernières présentant également des disparités en termes de longévité.

Nos hypothèses préliminaires étaient orientées vers une préservation plus marquée de l'activité antibactérienne dans l'hémolymphe des insectes issus des lignées à développement lent en comparaison avec les insectes des lignées à développement rapide. Nos résultats ont indiqué que le phénomène de priming améliore la survie des individus lors d'une infection, en particulier parmi les spécimens les plus jeunes. De plus, nous avons constaté que le maintien de ce phénomène est plus robuste chez les spécimens jeunes, mais diminue avec le temps. Par ailleurs, nous avons observé que le temps de développement semble légèrement contribuer à la protection de la survie des individus.

Il est intéressant de noter que nos attentes initiales concernant des différences plus nettes entre les lignées à développement rapide et à développement lent n'ont pas été confirmées, rendant ainsi difficile l'obtention de résultats concluants. Malgré cette absence de distinction significative, notre étude apporte de nouvelles perspectives sur le rôle du phénomène de priming immunitaire chez *T. molitor*. Elle met en évidence l'importance de facteurs tels que le temps de développement, l'âge et la persistance du priming dans la survie et la réponse immunitaire des individus.

En résumé, cette étude contribue à une meilleure compréhension des mécanismes de défense immunitaire dans le contexte de l'évolution et de l'adaptation des organismes aux défis posés par les agents pathogènes. Ces résultats ouvrent la voie à de nouvelles recherches visant à approfondir les interactions complexes entre le phénomène de priming immunitaire, le développement, l'âge et la survie chez *T. molitor*, ainsi que chez d'autres organismes.

Bibliographies

- Best A, Tidbury H, White A, Boots M (2013) The Evolutionary Dynamics of Within-Generation Immune Priming in Invertebrate Hosts. *Journal of The Royal Society Interface* 10:20120887. <https://doi.org/10.1098/rsif.2012.0887>
- Borges AA, Jiménez-Arias D, Exposito-Rodriguez M, et al (2014) Priming Crops Against Biotic and Abiotic Stresses: MSB as a Tool for Studying Mechanisms. *Frontiers in Plant Science* 5:642. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00642>
- Cerenius L, Lee BL, Söderhäll K (2008) The ProPO-System: Pros and Cons for Its Role in Invertebrate Immunity. *Trends in Immunology* 29:263–271. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.02.009>
- Cortes Ortiz JA, Ruiz AT, Morales-Ramos JA, et al (2016) Chapter 6 - Insect Mass Production Technologies. *Academic Press* 153:201. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802856-8.00006-5>
- DeVeale B, Brummel T, Seroude L (2004) Immunity and Aging: The Enemy Within? *Aging Cell* 4:195–208. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2004.00106>
- Dhinaut J, Balourdet A, Teixeira M, et al (2017) A Dietary Carotenoid Reduces Immunopathology and Enhances Longevity Through an Immune Depressive Effect in an Insect Model. *Sci Rep* 7:12429. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12769-7>
- Dhinaut J, Chogne M, Moret Y (2018) Immune Priming Specificity Within and Across Generations Reveals the Range of Pathogens Affecting Evolution of Immunity in an Insect. *Journal of Animal Ecology* 87:448–463. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12661>
- Dubuffet A, Zanchi C, Boutet G, et al (2015) Trans-Generational Immune Priming Protects the Eggs Only Against Gram-Positive Bacteria in the Mealworm Beetle. *PLOS Pathogens* 11:1005178. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005178>
- Eggert H, Diddens-de Buhr MF, Kurtz J (2015) A Temperature Shock Can Lead to Trans-Generational Immune Priming in the Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum*. *Ecology and Evolution* 5:1318–1326. <https://doi.org/10.1002/ece3.1443>
- González-Acosta S, Baca-González V, Asensio-Calavia P, et al (2022) Efficient Oral Priming of *Tenebrio molitor* Larvae Using Heat-Inactivated Microorganisms. *Vaccines* 10:1296. <https://doi.org/10.3390/vaccines10081296>
- Hoffmann JA (1995) Innate Immunity of Insects. *Current Opinion in Immunology* 7:4–10. [https://doi.org/10.1016/0952-7915\(95\)80022-0](https://doi.org/10.1016/0952-7915(95)80022-0)
- Huang C-C, Song Y-L (1999) Maternal Transmission of Immunity to White Spot Syndrome Associated Virus (WSSV) in Shrimp (*Penaeus monodon*). *Developmental & Comparative Immunology* 23:545–552. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(99\)00038-5](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(99)00038-5)
- Khan SA, Eggleston H, Myles KM, Adelman ZN (2019) Differentially and Co-Expressed Genes in Embryo, Germ-Line and Somatic Tissues of *Tribolium castaneum*. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 9:2363–2373. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400340>
- Kim C-H, Kim S-J, Kan H, et al (2008) A Three-Step Proteolytic Cascade Mediates the Activation of the Peptidoglycan-Induced Toll Pathway in an Insect. *Journal of Biological Chemistry* 283:7599–7607. <https://doi.org/10.1074/jbc.M710216200>

- Kirschman LJ, Quade AH, Zera AJ, Warne RW (2017) Immune Function Trade-Offs in Response to Parasite Threats. *Journal of Insect Physiology* 98:199–204. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2017.01.009>
- Lavine MD, Strand MR (2002) Insect Hemocytes and Their Role in Immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32:1295–1309. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(02\)00092-9](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(02)00092-9)
- Little TJ, Kraaijeveld AR (2004) Ecological and Evolutionary Implications of Immunological Priming in Invertebrates. *Trends in Ecology & Evolution* 19:58–60. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2003.11.011>
- Margraf N, Gotthard K, Rahier M (2003) The Growth Strategy of an Alpine Beetle: Maximization or Individual Growth Adjustment in Relation to Seasonal Time Horizons? *Functional Ecology* 17:605–610. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2435.2003.00775>.
- Milutinović B, Kurtz J (2016) Immune Memory in Invertebrates. *Semin Immunol* 28:328–342. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.05.004>
- Moreau J, Martinaud G, Troussard J-P, et al (2012) Trans-Generational Immune Priming Is Constrained by the Maternal Immune Response in an Insect. *Oikos* 121:1828–1832. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.19933>.
- Moret Y (2006) ‘Trans-Generational Immune Priming’: Specific Enhancement of the Antimicrobial Immune Response in the Mealworm Beetle, *Tenebrio molitor*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273:1399–1405. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3465>
- Moret Y, Coustau C, Braquart-Varnier C, Gourbal B (2018) Immune Priming and Trans-Generational Protection From Parasites 764:74. doi : 10.1016/B978-0-12-809633-8.90726-X
- Moret Y, Schmid-Hempel P (2000) Survival for Immunity: The Price of Immune System Activation for Bumblebee Workers. *Science* 290:1166–1168. <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1166>
- Moret Y, Siva-Jothy MT (2003) Adaptive Innate Immunity? Responsive-Mode Prophylaxis in the Mealworm Beetle, *Tenebrio molitor*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 270:2475–2480. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2511>
- Palacios MG, Martin TE (2005) Incubation Period and Immune Function: A Comparative Field Study Among Coexisting Birds. *Oecologia* 146:505–512. <https://doi.org/10.1007/s00442-005-0220-3>
- Pigeault R, Garnier R, Rivero A, Gandon S (2016) Evolution of Transgenerational Immunity in Invertebrates. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 283:20161136. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.1136>
- Prokkola J, Roff D, Kärkkäinen T, et al (2013) Genetic and Phenotypic Relationships Between Immune Defense, Melanism and Life-History Traits at Different Temperatures and Sexes in *Tenebrio molitor*. *Heredity* 111:89–96. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.20>
- Roth O, Joop G, Eggert H, et al (2010) Paternally Derived Immune Priming for Offspring in the Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum*. *Journal of Animal Ecology* 79:403–413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2009.01617>.

- Roth O, Sadd BM, Schmid-Hempel P, Kurtz J (2009) Strain-Specific Priming of Resistance in the Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum*. *Proceedings: Biological Sciences* 276:145–151. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1157>
- Sadd BM, Schmid-Hempel P (2007) Facultative but Persistent Trans-Generational Immunity via the Mother's Eggs in Bumblebees. *Current Biology* 17:1046–1047. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.11.007>
- Tetreau G, Dhinaut J, Gourbal B, Moret Y (2019) Trans-Generational Immune Priming in Invertebrates: Current Knowledge and Future Prospects. *Frontiers in Immunology* 10:1938. doi : 10.3389/fimmu.2019.01938
- Trauer U, Hilker M (2013) Parental Legacy in Insects: Variation of Transgenerational Immune Priming During Offspring Development. *PLOS ONE* 8(5):e63392. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063392>
- Vigeneron A, Jehan C, Rigaud T, Moret Y (2019) Immune Defenses of a Beneficial Pest: The Mealworm Beetle, *Tenebrio molitor*. *Frontiers in Physiology* 10:138. doi: 10.3389/fphys.2019.00138
- Zanchi C, Troussard J-P, Martinaud G, et al (2011) Differential Expression and Costs Between Maternally and Paternally Derived Immune Priming for Offspring in an Insect. *Journal of Animal Ecology* 80:1174–1183. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01872>
- Zanchi C, Troussard J-P, Moreau J, Moret Y (2012) Relationship Between Maternal Transfer of Immunity and Mother Fecundity in an Insect. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Containing Papers of a Biological Character Royal Society (Great Britain)* 279:3223–3230. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.0493>
- Zerofsky MS, Harel E, Silverman N, Tatar M (2005) Aging of the Innate Immune Response in *Drosophila melanogaster*. *Aging Cell* 4:103–108. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2005.00147>
- Zimmerman LM, Vogel LA, Bowden RM (2010) Understanding the Vertebrate Immune System: Insights From the Reptilian Perspective. *Journal of Experimental Biology* 213:661–671. <https://doi.org/10.1242/jeb.038315>

Annexe

Tableau S1 : Tableau des effectifs pour l'expérience de survie avec dans chaque case en numérateur l'effectif obtenu et en dénominateur l'effectif attendu. C : Contrôle, I : Injection PBS, P : Priming, J : Jeune, V : Vieux. Les nombres en rouge correspondent aux groupes supprimés.

Lignée	C_J	C_V	I_J	I_V	P_J	P_V	Total
1,7	27/30	29/30	29/30	28/30	28/30	29/30	170/180
2,6	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	180/180
3,7	20/30	23/30	22/30	21/30	24/30	26/30	136/180
5,7	1/30	0/30	22/30	21/30	23/30	26/30	93/180
12,7	30/30	30/30	30/30	30/30	29/30	30/30	179/180
17,6	2/30	0/30	29/30	27/30	26/30	28/30	112/180

Tableau S2 : Tableau des effectifs pour les mesures d'activité antibactérienne avec dans chaque case en numérateur l'effectif obtenu et en dénominateur l'effectif attendu. C : Contrôle, I : Injection PBS, P : Priming, J : Jeune, V : Vieux. Les nombres en rouge correspondent aux groupes supprimés.

Lignée	C_J	C_V	I_J	I_V	P_J	P_V	Total
1,7	19/20	20/20	18/20	18/20	18/20	19/20	112/120
2,6	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	120/120
3,7	13/20	16/20	15/20	10/20	13/20	12/20	79/120
5,7	1/20	1/20	14/20	10/20	12/20	13/20	51/120
12,7	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	120/120
17,6	2/20	3/20	18/20	16/20	16/20	15/20	70/120

Résumé

En réponse au parasitisme, les hôtes ont développé des mécanismes immunitaires coûteux mais modulables. Les invertébrés présentent un phénomène appelé "priming immunitaire" où une première infection renforce les réactions immunitaires futures, même au fil des générations. Les conséquences adaptatives et les dépenses liées à ce processus font l'objet de débats. Cette étude se penche sur le ténébrion meunier, un insecte utilisé comme modèle, pour analyser comment le priming immunitaire est influencé par le temps de développement des différentes lignées et l'âge au moment de l'infection. Les lignées dont le développement est plus lent pourraient manifester une résistance accrue et une activité immunitaire à long terme suite à une première infection, contrairement aux lignées à développement rapide.

Les individus ayant bénéficié du priming immunitaire ont démontré une survie améliorée face aux infections, surtout parmi les jeunes adultes. Cette amélioration de la survie découle d'une réponse immunitaire renforcée et persistante, qui prolonge l'action des composants immunitaires après une première infection. Toutefois, cette réponse pourrait aussi entraîner des coûts significatifs pour les individus, ce qui explique la diminution de la préservation du priming chez les individus plus âgés. De plus, nous avons observé que le temps de développement joue un rôle dans la capacité à survivre aux infections. Les spécimens ayant un développement plus lent présentent une résistance légèrement supérieure. Cependant, nos résultats auraient été plus convaincants si la distinction entre les lignées à développement lent et rapide avait été plus marquée.

Mots-clés : Priming immunitaire, *Tenebrio Molitor*, Ténébrion meunier, Survie, Age d'infection, temps de développement, maintien du priming.

Titre : Lien entre la croissance et les sénescences reproductive, actuarielle et immunitaire chez un insecte

Mots clés : *Tenebrio molitor*, Biologie évolutive, Traits d'histoire de vie, Théorie du soma jetable

Résumé : La sénescence, le déclin des performances de l'organisme avec l'âge, est un phénomène quasi-universel et qui nous semble donc très familier. Cependant, le « pourquoi » et le « comment » de ce phénomène n'ont vraiment commencé à être élucidés que récemment. D'un point de vue évolutif (le « pourquoi »), la diminution de la force de la sélection naturelle avec l'âge crée une opposition entre performances tôt et tard dans la vie, généralement au détriment de la période tardive. La théorie du soma jetable, notamment, propose que le déclin de l'organisme serait dû à l'accumulation de dommages mal réparés, les ressources étant allouées aux fonctions avantageuses plus précocement, comme la reproduction ou la croissance. Si le lien entre reproduction et sénescence a été très étudié au cours du dernier siècle, les connaissances sur celui entre croissance et sénescence restent à consolider.

Dans cette thèse, nous avons testé l'effet de la vitesse de croissance sur trois aspects de la

sénescence : la reproduction, la survie et l'immunité, chez le ténébrion meunier, *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae). Nous avons employé deux approches complémentaires, l'une basée sur la manipulation de la vitesse de croissance par l'environnement larvaire et la seconde sur l'étude de lignées consanguines, abordant ainsi la composante génétique du lien croissance-sénescence.

Ces approches ont montré qu'un investissement plus fort dans la croissance accélère la sénescence reproductive. L'approche phénotypique n'a pas permis de montrer de coût d'une forte vitesse de croissance sur la longévité, alors que des corrélations génétiques antagonistes ont été mises en évidence. Enfin, la manipulation des vitesses de croissance influence quel type de défense immunitaire est privilégié par les insectes. Nos résultats montrent donc que la vitesse de croissance a un effet variable en fonction des paramètres de sénescence considérés.

Title : Growth and reproductive, actuarial and immune senescence in an insect

Keywords : *Tenebrio molitor*, Evolutionary biology, Aging, Trade-off, Disposable soma theory

Abstract : Senescence, the decline in the performance of the organism with age, is an almost universal and therefore a very familiar phenomenon. However, the "why" and "how" of this phenomenon have only recently begun to be elucidated. From an evolutionary perspective (the "why"), the decline in the strength of natural selection with age creates an opposition between performance early and later in life, generally to the detriment of the late period. The disposable soma theory, in particular, proposes that the decline of the organism comes from the accumulation of damage, poorly repaired, because resources are allocated to advantageous functions earlier in life, such as reproduction or growth. If the link between reproduction and senescence has been extensively studied over the last century, knowledge on the relationship between growth and senescence remains to be consolidated.

In this thesis, we tested the effect of the growth

rate on three aspects of senescence: reproduction, survival and immunity, in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae). We used two complementary approaches, one based on the manipulation of growth rate by the larval environment and the second based on the study of inbred lines, thus addressing the genetic component of the link between growth and senescence.

These approaches have all shown that a stronger investment in growth accelerates the reproductive senescence. The phenotypic approach did not show any cost of a high growth rate on longevity, while antagonistic genetic correlations were highlighted. Finally, manipulating growth rates influences which type of immune defense is favored by insects. Our results therefore show that growth rate has a variable effect depending on the senescence parameters considered.