



Toulouse, 25/11/2015

Rapport du Dr. J. Gautrais sur la thèse de M. Julien Boulay, *Etude du comportement d'agrégation des larves nécrophages de Diptères : de l'individuel au collectif*, dirigée par MM. Jean-Louis Deneubourg, Valéry Hédouin et Damien Charabidzé.

Le travail de M. Boulay porte sur la caractérisation quantitative des comportements collectifs des larves nécrophages de Diptères. Il s'agit là d'un travail entièrement nouveau, réalisé dans un cadre général d'entomologie forensique où il trouvera ses applications, mais qui pose avant tout les bases d'étude de ce phénomène dans ses aspects les plus fondamentaux.

Partant du constat qu'en situations naturelles, les larves nécrophages sont retrouvées le plus souvent en agrégats de grande taille, M. Boulay pose la question de comprendre les mécanismes comportementaux à l'échelle individuelle qui président à ces structures spatiales collectives. Ses travaux montrent, de façon irréfutable, que ces comportements collectifs sont le résultat de décisions individuelles activement orientées vers ces structurations spatiales, et ne peuvent être réduites, hypothèse jusque là la plus favorisée, au simple effet secondaire de l'agrégation des pontes.

Sa première démonstration expérimentale (section 2.5.1) montre en effet que des larves initialement dispersées sur un milieu homogène se déplacent et interagissent pour finir par former un agrégat qu'aucune influence externe ne peut expliquer: ce phénomène d'agrégation collective doit donc être attribué, comme chez d'autres espèces, à des interactions comportementales spécifiques entre les individus de la population.

Retenant alors le cadre général de compréhension des dynamiques d'agrégations auto-organisées, M. Boulay propose une séquence logique d'études expérimentales très claires et rigoureuses, pour mettre en évidence les traits comportementaux caractéristiques à l'échelle individuelle impliqués dans cette dynamique d'agrégation.

L'étape suivante est logiquement de s'assurer en premier lieu de l'existence d'un support de communication inter-individuelle qui permette ces interactions (section 2.5.2). En manipulant la nature de la surface sur laquelle se déplacent les larves (surface neutre contre surface précédemment parcourue par d'autres larves, tous autres facteurs égaux par ailleurs), il montre l'existence d'un signal laissé par les larves de *Lucilia sericata*, sous la forme d'un marquage moléculaire (probablement des dépôts passifs d'hydrocarbures cuticulaires) et qui suffit à moduler leur déplacement et augmenter le temps de séjour dans les zones marquées par les congénères. Il s'assure, par là, que ce marquage est bien reconnu par les congénères, et qu'il affecte leur comportement de déplacement à l'échelle individuelle. Il montre de plus que les individus manifestent un comportement de recherche active d'un tel signal ("scanning", chapitre 3).

Un point particulièrement saillant du phénomène biologique étudié est, par ailleurs, le caractère hétérospecifique des agrégats en situations naturelles (ce qui ouvre en toute

généralité des questions intéressantes dans une perspective évolutive chez les arthropodes, dans la mesure où l'hétérospécificité des agrégats suppose un certain partage des bénéfices à s'agréger, partage qui devrait s'opposer à la spéciation...).

M. Boulay poursuit donc logiquement par une étude du phénomène d'agrégation, dans des situations contrôlées (choix binaires symétriques), mais pour tester cette fois l'effet d'un mélange de deux espèces *L. sericata* et *Calliphora vomitoria*, en variant le taux de mélange (Chap. 4). Ses conclusions sont là encore très claires : cette agrégation résulte d'une dynamique collective portée par les interactions entre les individus, et ces interactions apparaissent du même genre et du même ordre de grandeur entre individus d'espèces différentes (mais comparables tout au moins en taille et en forme). Cette agrégation interspécifique soulève donc la question complémentaire au regard du marquage chimique : si les interactions ont ce marquage pour support, il faut supposer que les deux espèces partagent un espace commun de signalisation (soit les mêmes signaux chimiques, soit des capacités à réagir d'une façon similaire à des signaux proches). Cette question reste (raisonnablement) ouverte dans l'attente d'analyses chimiques complètes du marquage, couplées à des tests de réactions comportementales, composé par composé (une note en annexe indique la présence importante d'un cholestérol dans le marquage, mais sans qu'il semble éliciter de réponse comportementale claire).

Enfin, pour comprendre comment ces dynamiques d'agrégation spontanées intraspécifiques mesurées en milieux homogènes peuvent se coupler avec des facteurs environnementaux tels que la température, M. Boulay utilise un dispositif original lui permettant de surimposer un gradient de température bien contrôlé à un milieu nutritif homogène (Chap.5). Il montre alors que trois espèces (ajoutant *Calliphora vicina* aux deux espèces déjà utilisées) présentent une agrégation préférentielle sur une zone de température bien définie, et que le couplage de la dynamique d'agrégation auto-organisée avec un gradient thermique permet au groupe de s'agréger à cette température préférée. Il est étonnant et très intéressant de constater que la valeur de cette préférence thermique diffère entre les 3 espèces et avec un écart important (22, 29 et 33 degrés). Une telle différence des préférences devrait en toute logique conduire à la ségrégation des agrégats en conditions environnementales hétérogènes en température alors que les mêmes dynamiques en conditions homogènes pourraient les conduire, selon toute vraisemblance, à former un agrégat commun.

Le travail rapporté constitue donc une suite bien construite de questions expérimentales, logiquement déduites de l'hypothèse pertinente de la nature auto-organisée du processus d'agrégation chez ces larves nécrophages, et en démontrant la pertinence sur chaque ingrédient testé. Chaque série expérimentale est menée avec une grande rigueur, et avec les contrôles requis pour s'assurer de leur bonne interprétation. Le manuscrit est organisé sur le principe de la thèse sur articles (6 articles dont 3 sont déjà parus ; les 3 autres, soumis, appelleront sans doute assez peu de révisions). L'ensemble de la thèse est donc très convaincant, riche de résultats, et, bien entendu, très solide en termes d'écriture. Ce travail ouvre, sur d'excellentes bases, un nouveau champ de questionnements très fertile.

Je soutiens donc sans réserve qu'il soit donné à M. Boulay la permission de présenter ses travaux en soutenance publique en vue d'obtenir le grade de Docteur.

Dans la perspective de celle-ci, et en espérant que la soutenance orale sera l'occasion d'un échange à leur propos, je soulèverai pour conclure quelques points qui me semblent dignes d'être discutés plus en détail qu'il n'est fait dans la partie discussion du manuscrit (ce qui est tout-à-fait compréhensible dans le cadre d'une thèse sur 6 articles).

Concernant le comportement à l'échelle individuelle qui permet l'agrégation, je note une hésitation quant à la nature exacte de la réaction comportementale, à la répartition spatiale des voisins certes, mais surtout au marquage chimique. Il est mentionné alternativement un effet d'attraction, et un effet de rétention, et parfois les deux. Pour l'effet de rétention, on comprend que la réaction puisse n'être conditionnée que par une information très locale (comme le nombre de congénères en contact), et c'est bien cette logique de rétention qui a été retenue par exemple dans les modèles d'agrégation chez les blattes (sous la forme d'une probabilité par unité de temps de se mettre en mouvement pour quitter l'agréagat modulée par le nombre de voisins en contact). L'attraction suppose au contraire une action à distance, et qui aurait pour effet de modifier les trajectoires pour les orienter activement vers les agrégats déjà formés. Il y a tout au long du manuscrit la mention que cet effet attraction a bien été démontré dans le cas présent des larves, mais la démonstration me semble manquer d'appui. Il apparaît que l'hypothèse retenue pour une telle action à distance invoque une "diffusion" du marquage à partir de son point de dépôt, mais son effet spécifique sur les trajectoires reste à préciser. Même la note en annexe A3 pourrait s'expliquer par un effet de seule rétention, et la démonstration du caractère attractif de l'agréagat ne peut s'appuyer, à mes yeux, que sur l'analyse complète des trajectoires (les données de tracking individuelles du Chap. 3 suggèrent par exemple une modulation très locale de faire un demi-tour si l'individu perd le signal...).

Il aurait été, par ailleurs, très utile de donner quelques éléments sur la dynamique collective des mélanges d'espèces en milieu homogène. Ce serait là une situation de référence pour la dynamique collective inter-spécifique, toutes choses égales par ailleurs. Comme on s'étonne à la lecture du manuscrit qu'il n'y soit fait référence nulle part, la question reste un peu trop ouverte et devrait sans doute être traitée avant de tester ces mélanges sur le gradient thermique.

Enfin, l'existence de préférences thermiques différents pour chaque espèce soulève la question de leur articulation biologique avec le bénéfice imputé à l'agrégation en termes de source de chauffage local (jusqu'à 20 degrés au-dessus de la température ambiante), alors que cette différence de température préférée devrait en toute logique conduire à des agrégats mono-spécifiques répartis selon les variations de température du substrat nutritif, variations qu'on suppose aisément être la règle dans les situations naturelles (ne serait-ce que par des effets d'exposition aux rayonnements solaires à un instant donné). Dans la même idée, un tel préférendum suggère une migration des agrégats au long de la journée pour suivre les variations de ce profil de températures du substrat nutritif. Une mise en perspective de ce préférendum au regard des situations thermiques attendues en conditions naturelles seraient donc bienvenue.

Dr Jacques Gautrais





Mme Laurence Fofana
Ecole Doctorale Biologie Santé
Faculté Henri Warembourg
59045 Lille Cedex

Gembloux, le 25/11/2015

Evaluation du manuscrit soumis par Mr Julien Boulay en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat

En Novembre 2015, j'ai été invité à évaluer la qualité du manuscrit soumis par Monsieur Julien Boulay en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur. Le document reçu s'intitule « Etude du comportement d'agrégation des larves nécrophages de Diptères : de l'individuel au collectif ». Ce document est organisé sous la forme d'une compilation de cinq publications scientifiques (une revue bibliographique et quatre articles de recherche), dont certains sont publiés dans des journaux à facteur d'impact. Je note également que d'autres articles ont été (co-)écrits par l'auteur mais non inclus dans le présent rapport.

Ma première impression est celle d'un document bien organisé et présenté, constitué d'un texte facile et agréable à lire, et richement illustré, tant pour les aspects méthodologiques que pour les résultats obtenus. Les approches expérimentales ainsi que les équipements employés sont diversifiés, ce qui est évidemment un plus en matière de formation. Si le candidat a eu de multiple occasion de présenter ses travaux dans des colloques français, je regrette qu'il n'ait pas eu l'occasion de communiquer ses résultats oralement dans un colloque international. C'est à mon sens une lacune dans sa formation. Je suis également surpris de ne pas retrouver l'un des directeurs de thèse (JL Deneubourg) parmi les auteurs des publications constituant cette thèse.

Une section introductory constitue la première partie du document. Elle ne constitue pas en elle-même un manuscrit publiable, mais vise à donner aux lecteurs les bases scientifiques nécessaires à la lecture du document. Y sont ainsi présentés pêle-mêle les insectes nécrophages et différents aspects éthologiques associés à la vie en groupe (agrégation, décision collective, auto-organisation...). Je recommande que la partie introductory soit restructurée: la thématique de cette thèse allie, pour la première fois (et élégamment) deux éléments : la vie en groupe et les espèces nécrophages. Je recommande donc que deux sections soient clairement identifiées dans cette introduction. Je fusionnerais ainsi les points 1 à 5 de l'introduction.



Une section consacrée aux objectifs et à l'organisation du reste du manuscrit est ensuite proposée. Je ne suis pas certain qu'il y faille faire référence aux aspects appliqués de ces recherches, qui visent, et c'est mon ressenti, des aspects purement théoriques. De manière plus ponctuelle, je compléterais la phrase « le comportement des insectes reste mal connu et peu étudié ». L'auteur vise assurément les insectes nécrophages et plus particulièrement leur comportement grégaire. Ces points devraient être précisés. J'ai beaucoup apprécié la section nommée « Plan » tant elle apporte une vue à la fois structurée et résumée du travail.

La revue bibliographique cible une question scientifique pertinente et en adéquation avec le projet de thèse de doctorat. Mon attention a toutefois été attirée par l'exemple de populations mixtes de pucerons et présenté dans le tableau 1.1 ; La référence citée (n°86) mentionne 3 espèces et non deux. De plus, ce tableau mentionne comme bénéfice une augmentation de production de miellat, ce qui, à mon sens, ne peut qu'être défavorable aux pucerons (plus grande « visibilité » pour les prédateurs, plus de substrat pour les champignons...). A vérifier donc. Un exemple (non cité dans le document) me vient en tête : celui des espèces de *Tribolium*, retrouvées fréquemment en agrégat d'espèces mixtes. La raison est simple : la majorité des espèces partagent une même phéromone d'agrégation. Cette situation existe dans plusieurs groupes d'insectes, et je n'ai pas pu lire cette information dans le document.

Le chapitre deux est un article de recherche publié dans l'excellente revue « généraliste » *Animal Behaviour*. Je ne peux que féliciter le candidat pour cette excellente contribution.

Le chapitre trois est constitué d'un article publié, dans une revue d'entomologie plus spécialisée, *Physiological Entomology*.

Le chapitre quatre est basé sur un manuscrit soumis à la prestigieuse revue *Proceedings of the Royal Society of London B*. Il ambitionne de démontrer la prise de décision collective au sein de groupes hétérospécifiques d'invertébrés. Je ne suis pas un spécialiste de ce domaine, mais il me semble que les résultats obtenus sont en adéquation avec les objectifs rappelés ci-dessus.

Le dernier manuscrit de recherche, soumis à *Entomologia Experimentalis et Applicata*, constitue le cinquième chapitre de cette thèse. J'y ai particulièrement aimé la discussion, qui tente d'apporter des éléments de réponse à la question centrale qu'on se pose en débuter la lecture de cette contribution « existe-t-il un lien entre la température sélectionnée par les larves nécrophages lors de l'expérimentation et leur température optimale de développement ? », mais aussi « Pourquoi les larves nécrophages ne sélectionnent-elles pas les températures élevées afin de réduire leur durée de développement sur le cadavre ».



Gembloux Agro-Bio Tech

Université de Liège

Entomologie fonctionnelle et évolutive

Pr Frédéric FRANCIS

La section « Annexe B » est imprécise, puisqu'elle ne fait pas la distinction entre les articles soumis de ceux qui sont acceptés/publiés.

Le chapitre consacré à la discussion est bien structuré et résume parfaitement les résultats obtenus, en les intégrant dans une réflexion globale.

En résumé, il s'agit d'un document de bonne qualité, et je supporte le candidat dans le processus de dépôt et de défense de thèse de doctorat.

Dr. François Verheggen